



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ROMATOLOJİK HASTALIĞI BULUNAN VE TNF BLOKE
EDİCİ AJAN TEDAVİSİ PLANLANAN HASTALARDA
LATENT TÜBERKÜLOZ ENFEKSİYONUNUN
SAPTANMASINDA TÜBERKÜLİN DERİ TESTİ,
QUANTİFERON-TB GOLD TESTİ VE T-SPOT.TB TESTİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÖKHAN SARGIN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Taşkın Şentürk

AYDIN-2012

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ROMATOLOJİK HASTALIĞI BULUNAN VE TNF BLOKE
EDİCİ AJAN TEDAVİSİ PLANLANAN HASTALARDA
LATENT TÜBERKÜLOZ ENFEKSİYONUNUN
SAPTANMASINDA TÜBERKÜLİN DERİ TESTİ,
QUANTİFERON-TB GOLD TESTİ VE T-SPOT.TB TESTİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR.GÖKHAN SARGIN

DANIŞMAN
Prof. Dr.Taşkın Şentürk

AYDIN-2012

Bu Araştırma ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Tarafından TPF-12006 Sayı ile
Desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince büyük emekleri ve katkıları olan, bilgi ve deneyimleri ile her zaman yol gösteren, her aşamada yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK' e, ayrıca İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde büyük emekleri bulunan değerli ve saygıdeğer hocalarımdan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sabri BARUTÇA olmak üzere, Prof. Dr. A. Zahit BOLAMAN, Prof. Dr. Ali Önder KARAOĞLU, Prof. Dr. M. Hadi YAŞA, Prof. Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Prof. Dr. Engin GÜNEY, Prof. Dr. V. Gürhan KADIKÖYLÜ, Prof. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU, Prof. Dr. Harun AKAR, Prof. Dr. Vahit YÜKSELEN, Prof. Dr. Nezih MEYDAN, Doç. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU, Yard. Doç. Dr. Mediha AYHAN ve Yard. Doç. Dr. Adil ÇOŞKUN' a, tez çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Emel CEYLAN ve Yard. Doç. Dr. Murat TELLİ' ye;

Her zaman yanımda, bana her konuda destek olan ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme ve eşim Dr. Betül ÇAKIR SARGIN' a teşekkür ederim.

Dr. Gökhan SARGIN

Aydın, 2012

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ.....	iv
KISALTMALAR.....	v
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR BLOKE EDİCİ AJANLAR.....	2
2.1.1. Tümör Nekroz Faktörün Biyolojisi.....	2
2.1.2. TNF Bloke Edici Ajanların Yapıları ve Özellikleri.....	3
2.1.3. Romatolojik Hastalıklarda TNF Bloke Edici Ajanların Kullanımı.....	5
2.1.4. TNF Bloke Edici Ajanların Yan Etkileri.....	6
2.2. TÜBERKÜLOZ.....	7
2.2.1. Tüberküloz Basili.....	7
2.2.2. Tüberküloz Patogenez ve İmmunitesi.....	7
2.2.3. Tüberkülozun Doğal Gelişimi.....	8
2.3 TÜBERKÜLOZ TANI YÖNTEMLERİ.....	9
2.3.1. Tüberkülin Deri Testi.....	9
2.3.2. Serolojik Tanı Yöntemleri.....	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. HASTA GURUBU SEÇİMİ.....	16

3.2. ÇALIŞMA PROTOKOLÜ VE TESTLER	17
3.2.1. Quantiferon TB-Gold Testi	17
3.2.2. T-SPOT.TB Testi	18
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	21
4. BULGULAR	21
4.1. DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER	21
5. TARTIŞMA	28
6. SONUÇLAR	33
7. TÜRKÇE ÖZET	34
8. İNGİLİZCE ÖZET	36
9. KAYNAKLAR	38

Şekil 1: TNF bloke edici ajanların moleküler yapıları.....	4
Tablo I: Ülkemizde TDT Değerlendirme Kriterleri.....	10
Tablo II: Tüberküloz antijenlerinin dağılımı.....	13
Tablo III: Quantiferon TB-Gold Testinin Değerlendirilmesi.....	18
Tablo IV: Olgulara ait demografik veriler.....	22
Tablo V: Hastalara ait TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB test sonuçları.....	22
Tablo VI: TDT, Quantiferon TB-Gold test ve T-SPOT.TB testinin BCG skar sayısına göre Dağılımı.....	23
Tablo VII: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda Quantiferon TB-Gold test ve TDT' nin birbirine göre dağılımı	24
Tablo VIII: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda TDT ve T-SPOT.TB test sonuçlarının dağılımı	24
Tablo IX: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan romatoid artrit tanılı hastalarda TDT ve Quantiferon TB-Gold test sonuçlarının dağılımı	25
Tablo X: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan romatoid artrit tanılı hastalarda TDT ve TSPOT.TB test sonuçlarının dağılımı.....	26
Tablo XI: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan ankilozan spondilit tanılı hastalarda TDT ve Quantiferon TB-Gold test sonuçlarının dağılımı.....	26
Tablo XII: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan ankilozan spondilit tanılı hastalarda TDT ve T-SPOT.TB test sonuçlarının dağılımı.....	27
Şekil 2: Steroid tedavisi alan hastalarda TDT ve T-SPOT.TB test sonuçlarının dağılımı....	27

KISALTMALAR

DMARD: Disease-Modifying Antirheumatic Drug

CD: Cluster of Differentiation

ESAT-6: Early Secreted Antigen Target-6 kD

CFP-10: Culture Filtrate Protein-10 kD

RD1 geni: Region of Difference 1 geni

ELISA: Enzyme Linked Immun Assay

ELISPOT: Enzyme Linked Immunospot Assay

HIV: Human Immunodefficiency Virus

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome

iNOS-2: indüklenabilir Nitrik Oksit Sentaz-2

STAT: Signal Transducer and Activators of Transcription

NK: Natural Killer (doğal öldürücü)

NF- κ B: Nuclear Factor- kappa B

anti-CCP: anti- Cyclic Citrullinated Peptide

ANA: Anti Nükleer Antikor

ds-DNA: double-stranded deoksiribonükleik asit

FDA: Food and Drug Administration

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tümör nekroz faktör (TNF) bloke edici ajanlardan infliximab, etanercept ve adalimumab ülkemizde yaklaşık 10 yıldan beri kullanılmaktadır. Bu ajanların kullanıma girmesi ile birlikte inflamatuvar romatizmal hastalıkların tedavisinde büyük bir gelişme olmuştur.

TNF bloke edici ajanlarla birlikte başta tüberküloz olmak üzere çeşitli enfeksiyonlara yatkınlık artmaktadır. En önemli sorunlarda birisi latent tüberküloz enfeksiyonunun alevlenmesidir (1,2). Tedavinin başlangıcında tüberküloz ve diğer olası maligniteler için çeşitli taramalar yapılmaktadır. Bunların başında Tüberkülin Deri Testi (TDT) gelmektedir. Yinede; TDT' nin latent tüberküloz enfeksiyonu için spesifitesi düşüktür. TDT' de kullanılan saf, etkin bir tüberkülin türevi olan saflaştırılmış protein türevi (Pure Protein Derivative, PPD) çevresel mikobakterilerde ortak olarak bulunur ve çapraz reaksiyona bağlı olarak yalancı pozitif; immunsupresyon ya da testin doğru uygulanmadığı durumlarda ise yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir (3-5).

Son zamanlarda, TDT ile etkinlik ve duyarlılıkları karşılaştırılan Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testleri önem kazanmıştır. Bu testlerin; latent tüberküloz enfeksiyonunu saptamada spesifitesi yüksektir (6-8). Testler TDT' de olduğu gibi hastalardaki hücrel immün yanıtı ölçmektedir. Testlerde kullanılan ESAT-6 (Early Secreted Antigenic Target 6-kDa) ve CFP-10 (Culture Filtrate Protein-10 kDa protein) antijenlerinin Bacillus Calmette-Guérin (BCG) aşı kökeninde ve birçok çevresel mikobakteride bulunmaması, T hücre yanıtını belirleyen interferon-gama (IFN- γ) düzeyinin tüberküloz basiline spesifik olduğunu göstermektedir (9,10).

Ülkemizde romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda, latent tüberküloz enfeksiyonu tanısı için mevcut testlerin duyarlılığını karşılaştıran bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışma ile romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda, latent tüberküloz enfeksiyonunun saptanmasında, TDT, Quantiferon TB-Gold testi ve T-SPOT.TB testinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR BLOKE EDİCİ AJANLAR

2.1.1. Tümör Nekroz Faktörün Biyolojisi

Tümör nekroz faktör (TNF) ilk olarak hücre yüzeyine bağlı öncül form olan transmembran TNF (tmTNF) olarak salınır. Bu form TNF alfa dönüştürücü enzim tarafından enzimatik olarak çözünür TNF (sTNF) formuna dönüştürülür. İşlem uyarılarına yanıt olarak gerçekleştirilir ve sonuçta molekül hücre yüzeyinden salınır (11). Biyolojik olarak aktif olması için moleküllerin üçünün bir araya gelerek homotrimerik yapıyı oluşturması gerekir. Başlıca kaynakları; makrofaj, T lenfositler olup bunlar dışında NK hücreleri, mast hücreleri, fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından da salınır (11). Molekülün salınımı sağlayan başlıca molekül lipopolisakkarittir ve kendisinin de etkilediği bazı sitokinler tarafından pozitif (IL-1, IL-2, IFN- γ) yada negatif (IL-10, prostoglandinler) geri beslemelerle denetlenir.

Glikoprotein yapıda ve birçok hücre yüzeyinde bulunan iki farklı TNF reseptörü (TNFR1, TNFR2) vardır. TNFR1, birçok biyolojik etkinin başlamasında rol alırken; TNFR2' nin sinyal oluşturuıcı etkisi yoktur ve yardımcı reseptör olarak görev alır. TNFR1' in sitoplazmik parçası "*death domain*" içeririrken, TNFR2' de bu yapı yoktur. İki reseptör arasındaki temel fark da "*death domain*" dir. Sitoplazmik alanda bulunan "*death domain*" in uyarılması ile farklı yollar aktif hale gelebilir ya da hücre direkt olarak apoptozise gider (11,12). TNF ve reseptör kompleksinin oluşturduğu sinyal; kısmen G proteini tarafından kontrol edilir. Fosfolipaz ve protein kinaz aktivasyonu sonucunda arasıdonik asit, inozitol fosfat, diaçil gliserol vb. türevler oluşarak hücrenin ölümüne yol açar. NF- κ B; immun cevabın regülasyonunda merkezi mediatör rolündedir.

TNF- α , proinflatuvar sitokinlerin salınımını, adezyon moleküllerinin sentezini, nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerin toplanmasını, makrofaj ve monositlerin olgunlaşmasını sağlar ve sitotoksik etkileri bulunmaktadır. Solid tümörlerin merkezinde bulunan makrofajların ürettiği TNF- α ile tümör hücreleri küçültölmeye çalışılır. Endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin üretimini arttırarak inflamatuvar hücrelerin damar endoteline yapışmasını sağlar ve trombomodölin sentezini inhibe eder. Bu sayede endotel hücresinin antikoagulan özelliği kaybolur. Ekstremsk yoldan pıhtılaşmayı başlayan TNF, antifibrinolitik özelliği sayesinde ve tüm bunların sonucunda dissemine intravasküler koagülopatiye yol açar.

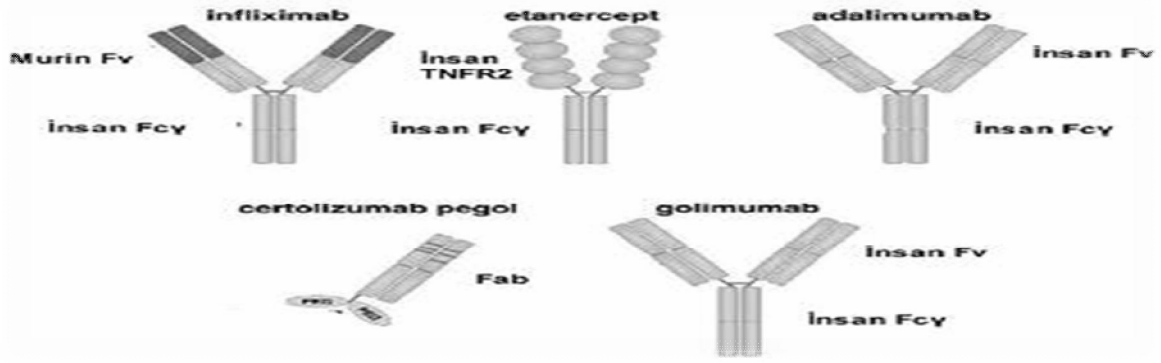
TNF; pankreas hücrelerinde inflamasyona yol açar, insülin salınımını azaltır, lipolizi indükler, adiponektin sentezini baskılar, oksidatif stres ve inflamasyonu artırır, ayrıca tip 1 kollojen sentezini azaltır, proteoglikan sentezini azaltarak kıkırdak oluşumunu baskılar, osteoklastik aktiviteyi artırır ve osteoporoz patogenezinde yer alır. AIDS, verem ve tümör varlığında sık olarak kaşeksi gözlenir. Bunun nedeni TNF' nin lipolizi arttırması, hepatik ve periferik insülin direncini arttırması ve katabolik süreci başlatmasıdır (13).

Latent tüberküloz enfeksiyonunda önemli rolü olduğu, anti-TNF- α veya TNF- α reseptör antikoru ile tedavi edilen romatolojik hastalıklarda gösterilmiştir. TNF- α aynı zamanda granülom oluşumu için de önemlidir. Anti-TNF- α antikoru verilen enfekte farelerde, granülom oluşumunun engellendiği ve bu farelerin öldüğü gösterilmiştir (14).

2.1.2. TNF Bloke Edici Ajanların Yapıları ve Özellikleri

Monoklonal antikoruların antijen bağlayan kısımları TNF bloke edici ajanlar arasında farklılık göstermektedir. İnfliximab kimeriktir ve molekül %25 fare, %75 oranında ise insan aminoasiti içerir. Buna karşılık adalimumab ve golimumab tamamen insan amino asidi içerir. İnflksimab IgG1 monoklonal antikoru olup tmTNF ve sTNF' ye bağlanarak aktivitesini nötralize eder, komplemanı fikse edip antikor aracılı sitotoksisteyi uyarır ve hücrelerin lizisine neden olur. Antikoruların Fc kısımlarının görevi komplemanı fikse etmektir (15). İnfliximab, adalimumab ve golimumab' ın Fc kısımları bulunurken, certolizumab' da Fc kısmı yoktur ve certolizumab' da kompleman fiksasyonunu Fab kısmı yapar. Etanerceptin moleküler yapısı diğer TNF bloke edici ajanlardan farklı olup Fc kısmı insan IgG1 molekülünün Fc kısmından oluşur. Etanercept iki TNF tip 2 (p75) reseptörünün IgG1' in Fc kısmına eklenmesi ile oluşturulmuştur, diğer TNF bloke edici ajanlardan farklı olarak Fc kısmına TNFR2' nin hücre dışı parçası eklenmiştir. İnflksimab' dan farklı olarak komplemanı fikse etmez, antikor bağımlı sitotoksisteye yol açmaz ve T hücre apoptozisini tetiklemez. İnfliximab ve etanercept sTNF' nin farklı epitoplarına bağlanır. İnfliximab sTNF' nin hem monomer hem de trimer formuna bağlanabilir, etanercept ise sTNF' nin sadece trimer formuna bağlanır, bu nedenle infliximab etanercepte göre 3 kat daha fazla TNF bağlar. İnfliximab ve adalimumab farklı sTNF trimerini aynı anda bağlarken, etanercept bir sTNF trimere bağlanabilir (15). Adalimumab, insan TNF- α ' sına spesifik rekombinan insan IgG1 monoklonal antikordur ve etkinlik olarak inflksimaba benzer, çözünebilir ve membrana bağlı olan TNF' ye bağlanır, komplemanı fikse eder ve TNF- α eksprese eden hücrelerin lizisine neden olur.

Etanercept, TNF üyesi olan LT' yi ve aynı zamanda LT α 2 β 1' i de bağlayabilir. Etanercept ve adalimumab subkutan uygulanmakta ve serum düzeyleri sabit düzeylerde tutulabilmekte, infliximabda ise intravenöz uygulanma yapılmakta ve diğerlerine göre 20-40 kat daha yüksek düzeylere ulaşılmaktadır. TNF bloke edici ajanların TNF kompleksini temizleme hızları farklıdır. Etanercept için TNF kompleksinin kandan uzaklaştırılma süreci haftaları bulur, adalimumab ve infliximabda ise bu daha hızlıdır. Monoklonal antikorlardan oluşan bu antikorlara karşı antikor gelişebilir, buna bağlı olarak ilacın etkinliği azalabilir ve infliximabda immunojenite gelişme olasılığı yüksektir. İnfliximabı 1 mg/ kg alan hastalarda %53 oranında antikor gelişirken 3 mg/ kg alan hastalarda %21 oranında antikor gelişir. İlaçların metotreksat ile birlikte kullanılması antikor gelişimini azaltmaktadır (16).



Şekil 1: TNF bloke edici ajanların moleküler yapıları (11)

TNF bloke edici ajanları etki mekanizması net değildir. Birinci mekanizma TNFR blokajı aracılığıyla, ikinci mekanizma ise tmTNF ilişkili mekanizmadır. İdeal bir TNF bloke edici ajan hem sTNF ve tmTNF' yi bloke etmelidir. Mevcut ajanların hepsi sTNF' yi bloke etmekle birlikte, etanercept infliximab ve adalimumab' a göre sTNF' yi daha iyi bloke etmektedir. Yüksek konsantrasyonda sTNF' yi her üç anti- TNF ajan eşit oranda bloke ederken düşük konsantrasyonda etanercept 20 kat daha etkilidir. Tüm TNF bloke edici ajanlar tmTNF' ye bağlanır.

Yapılan çalışmalarda infliximab ve adalimumabın apoptosisi indüklenme oranları benzer saptanmıştır (17). Bazı otoriteler infliximabın hem sTNF hem de tmTNF' ye bağlanırken etanerceptin asıl olarak sTNF' ye bağlandığını göstermektedir. TNF, sitokin kaskadında en üstte yer almaktadır. İnfliximab ve adalimumab ile bu hücrelerin düzeyi artmaktadır.

TNF bloke edici ajan tedavisi alan hastalarda romatoid faktör ve anti-CCP düzeyleri azalırken, anti nükleer antikor (ANA), ds-DNA gibi otoantikor düzeyleri artabilir ve bunun infliximab alan hastalarda gelişme oranı daha fazladır. Otoimmunitenin sebebi TNF bloke edici ajanlara bağlı uygunsuz hücre ölümü ve ortaya çıkan otoantikorlardır (18).

2.1.3. Romatolojik Hastalıklarda TNF Bloke Edici Ajanların Kullanımı

TNF bloke edici ajanlar uzun bir süreden beri romatoid artrit (RA), ankilozan spondilit (AS), psoriyatik artrit (PsA) tedavisinde kullanılmaktadır. İnfliximab, etanercept ve adalimumab ülkemizde ruhsatlı iken, golimumab ve certolizumab ise henüz ülkemizde onay aşamasındadır.

Romatoid artrit; birçok eklemi aynı anda tutabilen, kronik sistemik iltihaplı bir hastalıktır. Hastalığın tedavisinde TNF bloke edici ajanların kullanıma girmesiyle klinik remisyon daha kolay hale gelmiştir. Bu ajanlarla yapılan ilk kontrollü çalışmalar metotreksat tedavisine dirençli RA' lı hastalarda yapılmıştır ve plasebo+metotreksat tedavisine göre anlamlı etkinlik gözlenmiştir. Ayrıca, TNF bloke edici ajanlara klinik yanıtın düşük olduğu hastalarda bile radyolojik ilerlemenin baskılandığı gözlenmiştir (19). Bu ajanların etkileri klasik DMARD' lardan daha hızlı başlamaktadır. Hastaların yaklaşık %30' unda yanıtızsızlık ya da istenmeyen etki nedeniyle tedavi sonlandırılmaktadır (20). Yanıtızsızlık, baştan itibaren (primer) ya da ilaçların kullanımı sırasında (sekonder) gelişebilir. Bu ilaçların herhangi birine karşı sekonder yanıtızsızlık durumunda başka bir TNF bloke edici ajanın etkili olabileceği gösterilmiştir (20). Romatoid artritte, infliksimab tedavisi 4-8 haftalık aralarla tekrarlanan 3 mg/kg' lık infüzyonlar şeklindedir. İlk 0., 2., ve 6. haftalarda yükleme dozu yapılmaktadır. Yetersiz cevap durumunda doz 10 mg/ kg' a kadar çıkartılabilir. Erken RA' lı hastalarda yapılmış BeSt (21) çalışmasında fonksiyonel durumun korunması ve radyolojik progresyonun önlenmesi için en iyi tedavi seçeneğinin metotreksat ve infliximab birlikteliği olduğu gösterilmiştir. Romatoid artritte etanercept, haftada birkez 50 mg ya da 2 kez 25 mg subkutan uygulanabilir. Metotreksat olmadan tek başına kullanımı uygun olsada etki artışı nedeni ile klinikte diğer TNF bloke edici ajanlar gibi metotreksat ile kombine olarak kullanılması önerilmektedir (22). Romatoid artritte adalimumab, iki haftada bir 40 mg subkutan enjeksiyon olarak kullanılmaktadır. Yetersiz etki görüldüğünde haftada bir 40 mg olarak kullanılabilir. Tek başına kullanıldığı gibi diğer TNF bloke edici ajanlar gibi metotreksat ile birlikte de kullanılabilir. Adalimumab ile yapılan ARMADA (23) çalışmasında ACR20 ve ACR70 yanıtları tüm adalimumab guruplarında metotreksat grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Romatoid artritte golimumab, 4 hafta ara ile 50 mg subkutan enjeksiyon şeklindedir. Tek başına kullanıma uygundur ancak metotreksat ile kombine kullanımı daha etkilidir.

Ankilozan spondilit (AS); sakroilyak eklem, vertebral kolon ve büyük eklemleri tutan, entezopati ile üveit, barsak tutulumu gibi eklem dışı belirtileri de olan kronik iltihaplı bir hastalıktır. Özellikle çalışma çağındaki genç erkekleri etkilemekte ve iş gücü kaybına yol açmaktadır. AS' de tedavide ilk seçenek non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlardır. Ancak hastaların %20' si bu ilaçlara dirençli çıkmakta ya da gastrointestinal sistem yan etkileri nedeni ile kullanamamaktadır. AS' de TNF bloke edici ajanlarla tedavi oranları yüksektir. Norveç hasta veri tabanına göre bir yıllık devam oranları AS' de %78 iken RA' da %65 civarındadır (24). Klasik tedaviye rağmen hastalığı aktif seyreden AS' li hastalarda kullanılmaktadır. AS' de de TNF bloke edici ajanların diğerlerine üstünlüğünü araştıran çalışma yoktur. Etanercept ve adalimumab, RA ile aynı dozlarda kullanılırken infliximab 5 mg/ kg kullanılmaktadır. İnfliximab, RA' da metotreksat ile kombine kullanılırken, AS' de ek bir katkı gösterilememiştir (25).

Psöriatik artritli hastalarının %20' sinde periferik eklemler, omurga tutulumu görülmektedir. Psöriatik artritinin klasik tedavisi başta metotreksat ve siklosporin A olmak üzere çeşitli DMARD' lardır. Metotreksat tedavisine dirençli hastalarda etanercept, infliximab, adalimumab ve golimumab deri dışında periferik artrit, daktilit, entezit gibi eklem bulgularını da anlamlı şekilde baskılamıştır. Kontrollü çalışmaların meta analizinde adalimumab, etanercept ve infliximab' ın etkilerinin birbirine eşdeğer olduğu yönündedir (26).

2.1.4. TNF Bloke Edici Ajanların Yan Etkileri

Lenfoma gelişim riski normal popülasyona göre 2,5 kat artmıştır. Pansitopeni ya da aplastik anemi gelişebilir. Solid organlarda malignite oluşumunda riskin arttığı bildirilmekle birlikte veriler çelişkilidir (27,28). Tedavi sırasında ANA, anti-DNA gibi otoantikorlar meydana gelebilir ancak sistemik lupus eritematozis (SLE) gibi otoimmün hastalıkların gelişmesi enderdir (29). Renal, merkezi sinir sistemi tutulumu ve anti-DNA antikorlarının gelişiminin daha sık olması ile klasik ilaca bağlı SLE' den ayrılır (30). Hastaların %2' sinde karaciğer enzimlerinde artış görülebilir.

Yapılan çalışmalarda TNF bloke edici ajanların kullanımı sırasında ciddi enfeksiyonlar görülebilir ve klasik DMARD kullanan hastalara oranla risk 1-3 kat artmıştır.

Kronik hepatit B enfeksiyonu aktive olabilir ancak hepatit C enfeksiyonunun tedaviden etkilenmediği bildirilmiştir. Tedavi öncesinde hastaların hepatit B ve C enfeksiyonu açısından taramaları önerilmektedir (31). Gözlenen diğer bir yan etki ise latent tüberküloz enfeksiyonunun aktivasyonudur. Bu nedenle tedaviye başlamadan önce hastalar latent ya da aktif tüberküloz açısından taranmaktadır (32).

2.2. TÜBERKÜLOZ

2.2.1. Tüberküloz Basili

Tüberküloz basili 1882 yılında Robert Koch tarafından keşfedilmiştir. Actinomycetales soyundan gelir ve ‘‘*Mycobacterium Tuberculosis*’’ (M.tbc.) olarak adlandırılır. Basil; 2-4 µ uzunluğunda, 0.3- 0.6 µ eninde, düz- hafif kıvrık şekilde, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüzdür (33). Basil; olumsuz koşullara dayanıklı, üremesi yavaş ve oksijen parsiyel basıncının yüksek olduğu organ veya dokulara yerleşmeyi sever.

Özel yöntemlerle boyanmış olanlarda asit, alkol gibi kuvvetli renk giderici işlemlerle boyayı bırakmazlar, bu hücre duvarında peptidoglikan ve arabinomannanın oluşturduğu ağ tabakası ile ilişkilidir. Lipid içeriği gram pozitif bakterilerde %0,5, gram negatif bakterilerde %3 iken, mikobakterilerde %25’ tir. %95 etil alkol ve %3 hidroklorik asit ile mikobakteriler hariç tüm bakteriler boyalarını bırakır. Bu nedenle asit dirençli basil olarak adlandırılır (33). Hücre duvarında sitoplazmik membrana bağlı/ salgılanan proteinler, lipoproteinler ve polisakkaritler bulunur ve konak hücre makrofajlarından TNF-α salınımını artırır.

2.2.2. Tüberküloz Patogenez ve İmmunitesi

Bulaş sonrasında enfeksiyon ya da hastalık gelişip gelişmemesi konak direnci ile bakteriyel virülans arasındaki dengeye bağlıdır. Basil ile enfekte erişkin popülasyonun %90’ ında hiçbir zaman klinik hastalık meydana gelmez.

Sağlıklı kişiler tarafından alınan basil içeren damlacıklardan küçük partiküller alveollere ulaşır ve alveoler makrofajlarca fagosite edilir. İmmun yanıtın henüz gelişmediği ilk iki haftada basiller makrofaj içinde, alveol boşluğunda ya da lenfohematojen olarak yayıldıkları odaklarda serbestçe çoğalabilir. Hücresel immün yanıt ile T lenfosit ve makrofajlar aktifleşerek basilleri çevreler, nonspesifik konak yanıtı olarak granülomatoz inflamasyon gelişir. CD4+ T lenfositlerden salınan IFN-γ ile makrofaj/ monositler aktive olur ve makrofajların mikrobisidal gücü artırılır.

Makrofajlar çok nükleuslu dev hücelere (epiteloid) dönüşür, fagozom içindeki basiller süperoksit anyonu, radikal hidroksil ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller ile öldürölür.

Hücresele immunite ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu T hüceleri aracılığıyla olur. Hücresele immunite, antijen varlığında lokal olarak sitokin (IFN- γ , TNF- α) oluşturabilen geniş spesifik bir T lenfosit popülasyonu ile karakterizedir. Gecikmiş tip hipersensitivitede ise lenfositlerden açığa çıkan sitokinler basilleri öldürür, bunun dışında granölom merkezinde bulunan nekrotik dokularda pıhtılaşma mekanizmasını harekete geçirir, iskemi ve tromboza yol açar. Lezyon bölgesinde bulunan makrofajlara ait proteinaz, lipaz, endonukleaz gibi enzimler granölomun ortasında bulunan kazeomu eritir ve likefaksiyona yol açar.

Geç aşırı duyarlılık; T lenfosit ve bunların sitokinlerinin yer aldığı, kazeoz nekroza, yani lokal olarak makrofajların ve çevre dokuların ölümüne yol açan immunolojik reaksiyondur. Bu tip hiçbir zaman hücresele immunitenin yerini tutamaz; çünkü basil nekrotik alanların kenarından kaçır ve perifokal makrofajlar tarafından yutulur. Bu makrofajlar aktive olmuşsa, yuttukları basilleri harap edebilir. Aksi takdirde basiller yine, makrofajlar geç tip aşırı duyarlılık tarafından öldürölüne kadar hücre içi büyümelerini sürdürür ve kazeoz nekrotik alanını büyütürler.

CD4⁺ T lenfositler ürettikleri sitokinlere dayanarak iki kümeye ayrılmıştır (34). Th1 lenfositler interlökin-2 (IL-2), IFN- γ ve interferon-beta (IFN- β); Th2 lenfositler ise IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 üretir. IL-3, granölosit-makrofaj-koloni stimölün faktör ve TNF- α ise her iki alt grup tarafından üretilir. CD8⁺ T lenfositler ürettikleri sitokinler açısından Th1 lenfositlere benzer ve IL-10 tarafından inhibe edilir (35,36). Tüberkülozda; basillerin harap edilmesi için makrofajların aktivasyonunda en fazla öneme sahip hüceler Th1 lenfositlerdir. Th2 lenfositler daha çok B lenfositlerin antikor üretmesine katkıda bulunur.

Makrofajlar, faköltatif hücre içi mikroorganizmaları nonspesifik olarak öldürür. Primer enfeksiyon iyileştikten sonra, kan ve dokulardaki spesifik T hücelerinin sayısı zamanla azalır. Bacillus-Calmette-Guerin antijeni ile bağışıklık kazanılmasıyla elde edinilen hücresele direnç zamanla azalır ancak antijenine tekrar maruz kalındığında, hücresele direnç yeniden kazanılır. Hücresele immunitenin spesifikliği makrofajda değil T lenfositlerindedir (36).

2.2.3. Tüberkülozun Doğal Gelişimi

Primer tüberküloz ve primer enfeksiyon; bireyin tüberküloz basiliyle ilk kez enfekte olmasıdır. Epiteloid hücre, dev hücre ve lenfositlerden granölom gelişir. Bu yapıya Ghon odağı adı verilir. Basiller kan yoluyla vücuda yayılabilir ve menenjit, **miliyer**

tüberküloz gibi hastalığın ağır şekillerini ortaya çıkartabilir (37). Enfekte materyalin harap olan bir kan damarına boşalması ile hematogen yayılım olabilir. Vakaların çoğunluğunda enfeksiyon tümüyle kontrol altına alınır, hastalık gelişmez ve granülomatoz enfeksiyon odakları rezolüsyon veya nedbeleşme ile şifa bulur.

Enfeksiyon immun yanıt tarafından kontrol altına alınamazsa **progresif destrüktif primer tüberküloz** gelişir. Primer tüberküloz gelişmesi yaş, genetik, basil sayısı, temas sıklığı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmekle birlikte bebek ve genç erişkinlerde daha sıktır. Hücrel immünite, lezyon çevresinde ve lenfatik sistemde basillerin çoğalmalarını ve dolayısıyla yayılmalarını önleyerek lezyonların sınırlı ve lokalize kalmalarını sağlar. Primer enfeksiyondan basillerin reaktivasyonuna kadar geçen süreyi kapsayan dönem **latent dönem** olarak tanımlanır (37,38).

Sekonder tüberküloz; primer enfeksiyon geçirmiş kişide tüberkülozun reaktif olmasıyla oluşur. Başlangıç lezyonlarının üst zonlara yerleşmesi, bronş yolu ile yayılması, hiler lenfadenopatinin ve spontan iyileşmenin nadir olmasıyla primer tüberkülozdan ayrılır. Sekonder tüberkülozda bilinen en önemli risk faktörü bağışıklık sisteminin baskılanmasıdır (38).

2.3. TÜBERKÜLOZ TANI YÖNTEMLERİ

Tanıda anemnez ve klinik bulgular önemlidir. En sık görülen bulgular öksürük, subfebril ateş, göğüs ağrısı, kilo kaybı ve hemoptizidir. Bakteriyolojik inceleme olarak balgam, mide suyu, plevra-perikard-periton sıvıları ve beyin omurilik sıvısı kullanılabilir. Akciğer grafilerinde nodüler, alveoler veya interstisyel infiltrasyon üst zonlarda veya klavikulanın üstündeki alanda gözlemlenebilir. Akciğer grafisi tek başına tanı koydurmaz ve hastaların takibinde klinikle birlikte yeri vardır. Akciğer grafisinde önceden lezyonu olan ve balgam çıkarabilen kişilerde üç balgam örneği farklı günlerde alınıp değerlendirilmelidir. Tüberkülozun moleküler tanısında kullanılan nükleik asit hibridizasyon yöntemleri, polimeraz zincir reaksiyonu, transkripsiyon bazlı amplifikasyon moleküler düzeyde kullanılabilir. Tüberkülin Deri Testi ise 1930' lu yıllardan beri tüberküloz enfeksiyonunu saptamada rutin olarak uygulanan tanı yöntemidir (3,4). Bu test ile, basilin belirli antijenik bileşenlerinin enfekte kişilerde geç tipte aşırı duyarlılık yapması aranmaktadır.

2.3.1. Tüberkülin Deri Testi

Robert Koch basil kültürlerinin filtrasyonundan tüberkülin adı verilen maddeyi bulmuş ve bunu tüberkülin (old tüberkülin) olarak adlandırmıştır. Tüberkülin deri altına verildiğinde

tüberkülozlu hastalarda saatlerce süren ateş, kusma yapar ancak tüberkülozu olmayan kişilerde herhangi bir semptomu yol açmaz ya da çok hafif bir reaksiyon görülür.

Amerika’ da 1939 yılında saf, dayanıklı ve etkin bir tüberkülin türevi olan saflaştırılmış protein türevini (Pure Protein Derivative, PPD) bulunmuştur.

Tüberkülin Deri Testi, kişinin tüberküloz basili ile enfekte olup olmadığını gösterir, hastalık hakkında bilgi vermez ve tanıda dolaylı olarak yardımcı olur. Testin esası, basilin belirli antijenik bileşenlerinin, tüberküloz basili ile enfekte olan kişilerde gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonu yapmasıdır. Enfeksiyon ile daha önceden T hücreleri duyarlılaşmıştır. TDT yapılan yere bu duyarlılaşmış T hücreleri gelir ve ortama lenfokin salar. Lenfokinler, o bölgede vazodilatasyon, ödem, fibrin birikimi ve diğer inflamatuvar hücrelerin toplanmasına yol açar ve sonuçta endürasyon olur. Reaksiyon 5-6 saat içinde başlar, 48-72 saatte maksimuma ulaşır ve kaybolması günler içindedir. İlk 24 saatte ortaya çıkan reaksiyonlar geç tip yanıt ile karıştırılmamalıdır.

Ülkemizde TDT değerlendirme kriterleri T.C Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı tarafından belirlenmiştir (14,41). Testin yorumlanması Tablo I’ de gösterilmiştir. AIDS, diabetes mellitus, lenfoma ve lösemi gibi hematolojik maligniteler, kronik malabsorbsiyon sendromları, kronik alkolizm, pnömokonyoz, kronik böbrek yetmezliği, uzun süre yüksek doz kortikosteroid tedavi alan kişiler (2-4 hafta süreyle, günde 15 mg ve üstü prednizon dozuna eşdeğer steroid dozları) bağışıklığı baskılanmış olarak değerlendirilir (4).

Tablo I: Ülkemizde TDT Değerlendirme Kriterleri

BCG’ lilerde	
0-5 mm	Negatif
6-14 mm	BCG pozitifliği, aşılarmaya atfedilir
15 mm ve üstü	Pozitif, enfeksiyon olarak değerlendirilir
BCG’ sizlerde	
0-5 mm	Negatif
6-9 mm	Şüpheli reaksiyon → 1 hafta sonra test tekrarı; 6-9 mm negatif >10 mm Booster fenomeni
10 mm ve üstü	Pozitif, enfeksiyon olarak değerlendirilir
Bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5 mm ve üzeri pozitif olarak kabul edilir	

Uzun süre tüberküloz antijeniyle karşılaşmayan hafıza hücreleri, antijeni tanımayabilir ancak yapılan ilk TDT ile hafıza hücreleri antijeni hatırlar. Bir hafta sonra yapılan TDT ile de gerçek reaksiyon ortaya çıkar. Bu şekilde reaksiyonun belirgin şekilde artması booster etkisi olarak tanımlanır. Booster etki genellikle iki yıl kadar sürebilir. Booster etki ile anergi olmadığı gösterilmiş olur. Negatif TDT' ne sahip kişilerde test tekrar edildiğinde iki yıl içinde reaksiyonun belli değerlerin üzerine çıkması cilt testi konversiyonu olarak adlandırılır. İki senelik süre içinde; 35 yaş altında olan kişilerde endurasyonun 10 mm ve üzerinde artışı, 35 yaş üstünde olan kişilerde ise endurasyonun 15 mm ve üzerinde artışı kişinin bu süre içinde enfekte olduğunu düşündürür (3-5).

Ülkemiz gibi aşılama oranının yüksek olduğu ülkelerde, TDT' de kullanılan sınırların daha yüksek olabileceği düşünülmektedir. Uçan ve arkadaşlarının (42) yaptığı çalışmada 21-60 yaş arası grupta ortalama TDT değeri 13,7 mm olarak bulunmuştur. Dolayısıyla daha güvenilir sınır değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir. TDT yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik oranları yüksek olduğu için özgüllüğü ve duyarlılığı düşük olan bir testtir. Yalancı pozitiflik oranları dünyanın değişik bölgelerine göre farklılık göstermekle birlikte % 17-25 arasındadır. Yalancı negatiflik oranları da yapılan çalışmalarda % 17-32 düzeyinde saptanmıştır (14). **Yalancı negatiflik;** test edilen kişi, kullanılan tüberkülin ya da uygulama yöntemine ilişkin faktörlerden kaynaklanabilir. Test edilen kişiye ait olan faktörler; sistemik viral, bakteriyel yada fungal enfeksiyonlar olabilir. Kızamık, kabakulak, su çiçeği, HIV gibi viral enfeksiyonlar ile tifo, tifus, brusella, boğmaca gibi enfeksiyonları, metabolik bozukluklar, protein düşüklüğü, lenfomalar, kronik lösemi gibi hematolojik maligniteler, kortikosteroid ve immunosupressif kullanımı ve yanıklar da yalancı negatifliğe yol açabilir. Uygun olmayan depolama koşulları, kontaminasyonlar yalancı negatifliğe yol açan ve kullanılan antijen ile ilgili olan sorunlardır. Uygulama yöntemine ilişkin faktörler ise az miktarda antijen enjekte etmek, cilt altına enjeksiyon ya da antijeni geç uygulamadır (43,44). BCG ile aşılama, tüberküloz dışı mikobakterilerle enfeksiyon, booster etkisi, küçük venüllerin rüptürü, sekonder enfeksiyon, eritemin ölçülmesi gibi hatalı yorumlamalar ile yeni kan transfüzyonunun yapılmış olması **yalancı pozitif** TDT nedenleridir (44).

2.3.2. Serolojik Tanı Yöntemleri

İmmunolojik tanı için, mikobakteriyel antijenlerin gösterilmesi ve bu antijenlere karşı oluşan antikorların saptanmasına gerekmektedir (45-47). Serolojik tanı yöntemleri yüksek tanı değerine sahiptir, özellikle klinik ve radyolojik olarak tüberküloz bulguları olmayan hastaların hızlı tanısını sağlamaktadır.

Tüberküloz sırasında serumda ortaya çıkan antikorlar tarafından tanınan tek bir antijen ya da sık rastlanan bir antijen kombinasyonu yoktur. Bu nedenle serolojik tanı testlerinde antijen karışımları kullanılmakta ve tüberküloz olgularını yakalanma şansı artmaktadır. Tüberkülozda çapraz reaksiyon veren epitoplara bağlı yanlış pozitif test sonuçları olabilir. Bunu önlemek için, antijenler M.tbc.' ye özgül ve birden fazla sayıda olmalıdır. Son yıllarda enfekte olgu ve hasta tanısında M.tbc.' e spesifik sekrete edilen antijenlerin varlığından söz edilmektedir. Özellikle ESAT-6, CFP-10, MPT-63 ve MPT-64 ile ilgili çalışmalar umut vericidir (46,47).

“*Mycobacterium Tuberculosis*” özgül antijenden biri 24 kDa ağırlığında olan MPT64’ dür. Bu antijen M.tbc. ve M.Bovis kültürlerinde gösterilmiş ancak bazı BCG örneklerinde gösterilememiştir. MPT64’ ü kodlayan genin bazı BCG alt suşlarında olmadığı ve antijeninin orta derecede lenfosit yanıtına yol açtığı gösterilmiştir (48). Yapılan başka bir çalışmada yüksek doz MPT64 yama testiyle hasta ve sağlıklı birey ayırımında %100 spesifite ve %98.1 sensitivite gözlenmiştir (49,50). Son yıllarda, daha düşük molekül ağırlığına sahip olan ESAT–6 protein antijeni kültürlerden izole edilmiş ve gen bölgesi belirlenmiştir (9). Bu antijeni kodlayan genin M.tbc.’ de bulunduğu, BCG suşları, M.Kansasii/ Marimum/ Szulgai/ Flavescens haricindeki diğer mikobakteri türlerinde bulunmadığı gösterilmiştir (45). Bir diğer antijen, CFP–10 olarak adlandırılmıştır ve ESAT–6 antijen ile aynı gen bölgesinden kodlanmaktadır. Bu iki molekül tüberküloz hastalarının çoğunluğunda tespit edilen immunodominant proteinlerdir (48-50). Tüberküloz antijenlerinin dağılımı Tablo II’ de gösterilmiştir (51-52).

Tablo II: Tüberküloz antijenlerinin dağılımı

	ESAT-6	CFP-10	MPT 64
<u>Tüberküloz kompleks</u>			
M. tbc.	+	+	+
M. africanum	+	+	+
M. bovis	+	+	+
<u>BCG susları</u>			
Göthenburg	-	-	-
Moreau	-	-	+
Tice	-	-	+
<u>Cevresel mikobakteriler</u>			
M. avium	-	-	-
M. intracellulare	-	-	-
M. kansasii	+	+	-
M. marinum	+	+	-
M. szulgai	+	+	-

Antijenleri kodlayan geni taşıyan diğer mikobakteri türleri içinde sadece M.Kansasii tüberküloz benzeri hastalığa neden olmaktadır. Ancak bu tür de nadiren enfeksiyona yol açmaktadır. Danimarka’ da yapılan bir çalışmada M.tbc. dışındaki mikobakterilerle enfekte hastalardan elde edilen izolatların %0,5’ inde M.Kansasii bulunmuştur (10).

İn vitro pasajlar sırasında, BCG suşunda bazı bölgelerin delesyona uğradığı gözlemlenmiştir. Bu bölgeler Regions of Differences (RD-1, RD-2 ve RD-3) olarak adlandırılmıştır. RD-1, immunolojik olan ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini kodlayan bölge olup yapısal olarak 9 adet protein (Rv3971-Rv3979) kodlayan bölgedir (51-53). Bu bölgenin virulans ile ilişkili olabileceği düşünülmüş ve yapılan bir çalışmada M. Bovis BCG suşuna RD1 geni yerleştirilerek daha virulan hale geldiği görülmüştür (52).

İnterferonların Biyolojisi

İnterferon ismi “interfer; mani ve engel olmak” kelimesinden türemiştir. Antiviral, antiproliferatif, immun düzenleyici etkileri bulunmakta ve antijenik olarak 2 farklı gruba ayrılmaktadır.

Tip 1 IFN’ nin dört alt tipi bulunur. Bunlar; α , β , τ (tau) ve ω (omega) dır. İnterferon- α temel olarak lökositlerden üretilirken, IFN- β lökosit, fibroblastlar dahil olmak üzere lökosit dışı hücreler tarafından da sentezlenebilir (53). Tip 2 IFN; IFN- γ veya immun IFN olarak da adlandırılır. İmmun reaksiyonlar sırasında, antijen ya da mitojenler tarafından uyarılan CD4+ T lenfositler ve nadiren de CD8+ T lenfositler tarafından üretilir.

En önemli özelliği immun düzenleyici bir molekül olmasıdır (53,54). Shimokata ve arkadaşları (55) tüberküloz plörezisi olan hastalardan elde edilen plevral kaynaklı lenfositleri PPD ile uyarmışlar ve IFN- γ üretiminde CD4 T+ lenfositlerin sorumlu olduğunu göstermişlerdir.

İnterferon-gama, makrofajların güçlü bir uyarıcısı olup makrofajların bakterisidal ve tümörosidal etkinliğini artırır. İn-vitro ortamda, IFN- γ tarafından aktif hale getirilen makrofajlarda; genişleme, dağılma ve psödöpod oluşumu gibi olgunlaşma belirtileri görülür. İnterferon-gama Th1 hücrelerin aktivitelerini artırarak hücresel immunitiyi artırır (56).

İnterferon-gama, tüberkülozdaki antijen spesifik T hücre immunitesinde primer olarak yer alır, makrofaj aktivasyonunda en önemli sitokindir ve farelerde iNOS-2 sentezi için potent uyarandır. M.tbc. ile enfekte farelerde, indüklenebilir nitrik oksit sentaz-2 (iNOS-2), NOS inhibitörleri tarafından bloke edildiği zaman mortalite artmaktadır (57). İnterferon-gama veya NOS-2 sistemi harap edilmiş farelerde enfeksiyona eğilim artar (58). İnsan makrofajları IFN- γ ' ya maruz kaldığında, tüberkülozlu hastalarda bronkoalveolar lavajlarından NOS-2 üretimi olduğu gösterilmiştir (59). İnterferon-gama; makrofajlarda kalsitriol [1,25(OH)₂D₃] sentezini sağlayarak tüberkülozu stabilize etmeye çalışır. Bazı çalışmalarda, kalsitriolün NOS-2 üretimini uyardığını ve insan makrofaj benzeri hücre dizilerinde basil büyümesini durdurduğu gösterilmiştir (60).

Tip 1 IFN' lerin hepsi aynı IFN reseptörüne, Tip 2 IFN' ler ise farklı bir reseptöre bağlanır. Neredeyse bütün hücre tipleri IFN- γ için reseptör taşır ve bu sitokinin etkisiyle hücre yüzeyindeki sınıf I MHC proteinleri artar. Sitokinin reseptöre bağlanması STAT (signal transducer and activators of transcription) yolağını aktive eder ve IFN- γ üretiminden sorumlu genlerin transkripsiyonunu stimüle eder. Sonuçta IFN- γ salgılayan lenfositlerin yakınında bulunan hücreler endojen antijen sunumunda daha yetenekli konuma gelir.

IFN- γ Üretiminin Ölçülmesi

Mikobakterium tüberkülozis genomunda bulunan ancak M.Bovis, BCG suşları ve birçok nontüberküloz mikobakterde bulunmayan RD1 gen segmentinin saptanması ve bu segmentlere karşı gelişen immun yanıtların ölçülebilmesiyle yeni test yöntemlerinin önü açılmıştır. İn-vitro T hücrelerinden üretilen IFN- γ ölçülmesine dayalı testler son zamanlarda önem kazanmıştır. Tüberküloz antijenleri ile duyarlı hale getirilen T hücreleri mikobakteriyel antijenlerle tekrardan karşılaştığında IFN- γ üretmektedir.

Mikobakteriler, Th1 hücrelerinden IFN- γ sekresyonu için potent uyarıcıdır. CD4+ T hücreleri ESAT-6' nın N-terminal aminoasid sekanslarında oluşan bir epitopu spesifik olarak tanımakta ve cevap olarak monoklonal antikor (IFN- γ gibi) üretmektedir. Yüksek düzeyde IFN- γ üretimi tüberküloz enfeksiyonu için göstergedir. Tüberküloz tanısı için, immun sistemi uyarıcı antijen olarak PPD kullanılabilir ancak tanıda istenilen duyarlılık ve özgüllüğe ulaşamamıştır. Yeni geliştirilen testlerde mikobakterium tüberkülozise özgül antijenler (ESAT-6, CFP-10) kullanılmakta ve Th yanıtını güçlü bir şekilde indüklemektedir. Mikobakterium tüberkülozis genomunun RD1 bölgesinde lokalize genler tarafından kodlanan bu proteinler, PPD' ye kıyasla mikobakterium tüberkülozise daha özgüldür. Çünkü bu antijenler BCG alt zinciri, M.Kansasii, M.Marinum ve M.Szulgai hariç diğer türlerde bulunmamaktadır (45).

Son 10 yılda yapılan araştırmalarla dört adet ticari IFN- γ ölçümüne dayanan test geliştirilmiştir. Testlerde tüberküloz antijenlerine yanıt olarak T hücrelerince üretilen IFN- γ ölçülmektedir ancak testlerin çalışma özellikleri oldukça değişkendir. Bu testler; QuantiFERON-TB assay (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia), T-SPOT.TB assay (Oxford Immunotec, Oxford, UK), QuantiFERON-TB Gold (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) ve QuantiFERON-TB Gold (In-Tube metod) dur. Testlerde, “Enzyme Linked Immun Assay” (ELISA) ve “Enzyme Linked Immunospot Assay” (ELISPOT) yöntemleri kullanılmaktadır.

İnterferon-gama dayanan testlerin, TDT' ye kıyasla birçok avantajı vardır. Tüberküloz enfeksiyonunun gösterilmesinde IFN- γ ölçümüne dayanan testlerin, TDT ile karşılaştırıldığında daha sensitif ve spesifik olduğu gösterilmiştir. Tüberkülin deri testinde duyarlılık %75-90, özgüllük %70-95 iken; IFN- γ ölçümüne dayalı testlerde duyarlılık %75-90, özgüllük ise %80-95 oranındadır (61,62). Yanlış negatif TDT sonuçlarına eğilimli gruplarda ve enfekte olup da aktif tüberküloz gelişme riski olanlar için tanıda yardımcı testlerdir. BCG ve nonmikobakter tüberkülozla çapraz reaksiyon daha azdır, booster etkisi yoktur ve yanlış pozitif sonuçları azaltarak gereksiz tedavi ve oluşabilecek yan etkileri azaltmaktadır. Güvenirlilik konusunda çalışmalar halen devam etmektedir.

Testlerin maliyeti TDT' ye göre fazladır, laboratuvar alt yapısı gerekir ve testin sonuçlanması 1-2 günü alır. TDT' nin maliyeti daha az olmasına rağmen, test sonuçlarında yorumlanma eksiklikleri ve yanlış pozitif sonuçların olması gereksiz tetkik ve tedavi giderlerine yol açarak TDT' nin maliyetini arttırmaktadır (63). Test pozitifliği ile izlem süresince tüberküloz gelişimine bakıldığında ise TDT' de orta-güçlü ilişki varken, IFN- γ ölçümüne dayalı testlerde veriler yetersizdir.

Testler in vitro olarak yapılmakta, hasta viziti yaparak ölçümler gerektirmemekte, sonuçlar daha subjektif ve latent tüberküloz tanısı dışında aktif tüberküloz tanısı, latent tüberküloz enfeksiyonu olanlarda aktivasyonun saptanmasında ve tedaviye yanıtın izlenmesinde kullanılabilmektedir (64).

T-SPOT.TB assay (Oxford Immunotec, Oxford, UK) ELISPOT yöntemi ile ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerine karşı spesifik IFN- γ üreten CD4+T lenfositlerin sayısı ölçülmekte ve hücrel immün yanıt değerlendirilmektedir. Test, Avrupa’ da kullanılmakta ancak Amerika’ da henüz FDA onayı almamıştır. QuantiFERON-TB Gold testinde (Cellestis Ltd, Carnegie, Australia) da ESAT-6 ve CFP-10 antijenleri kullanılmakta ve Avrupa ve Amerika’da kullanılmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA GURUBU SEÇİMİ

Bu çalışmada, 01.06.2011-31.08.2012 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı İmmunoloji ve Romatoloji Bilim Dalına başvuran romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan, 18-70 yaş aralığında olan 49 hasta incelendi. Çalışmaya daha önceden TDT’ si yapılmış olan hastalar dahil edildi.

Değerlendirmeye alınan 49 hastanın adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, mesleği, şikayetleri, fizik muayene bulguları, varsa ek hastalıkları, kullandığı ilaçlar, tüberküloz öyküsü, BCG skar sayısı ile TDT, QuantiFERON-TB Gold ve T-SPOT.TB testlerinin sonuçları olgu takip formuna kaydedildi. Hastaların TDT’ leri dosyalardan retrospektif olarak tarandı ve sonuçlar T.C Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı’ nın TDT değerlendirilmesi için önerdiği sınırlar göz önüne alınarak hesaplandı (Tablo I).

Çalışma öncesinde Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı. Etik kurul onayı (Sayı: B.30.2.ADÜ.0.01.00/050.04-766 nolu karar) alındıktan sonra çalışma İmmunoloji ve Romatoloji Bilim Dalı, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı ile Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı işbirliği ile gerçekleştirildi. Hastalara çalışmanın amacı ile yapılacak işlemler anlatıldı ve çalışma hakkında ayrıntılı olarak bilgilendirilmiş onam formu verilerek yazılı onamları alındı.

3.2. ÇALIŞMA PROTOKOLÜ VE TESTLER

3.2.1. Quantiferon TB-Gold Testi

1. Her hasta için, kan alma tüplerine direk olarak 1 ml kan alındı.
2. Tüplerin tüm iç yüzeylerinin kanla kaplanması için kuvvetli bir şekilde 5 saniye boyunca tersyüz edilerek karıştırıldı.
3. Tüpler uygun şekilde etiketlendikten 5 dakika sonra 37°C' lik inkübatöre transfer edildi.
4. Tüpler, 37°C' de 16 ila 24 saat dik olarak inkübe edildi.
5. İnkübasyonundan sonra, tüpler 15 dakika 2000 ile 3000 RCF (*Relative Centrifuge Force*)' de santrifuj edilerek plazmaları ayrıldı.
6. “*Konjugat*” dışında tüm plazma örnekleri ve reaktifler, kullanmadan önce oda sıcaklığına (22°C ± 5°C) getirildi ve oda sıcaklığında en az 60 dakika bekletildi.
7. Dondurularak kurutulmuş “*Standart*”, şişesinin etiketinde belirtilen miktarda distile su ile çözüldü. Köpürmesini azaltmak ve tamamen çözüldüğünden emin olmak için hafifçe karıştırıldı.
8. Distile su ile çözülen “*Standart*”, prospektüste belirtilen şekilde “*green diluent*” ile sulandırıldı ve dört farklı IFN-γ konsantrasyonu elde edildi.
9. “*Konjugat*” distile su ile sulandırılarak prospektüse göre konjugat çalışma solüsyonu hazırlandı.
10. Konjugat çalışma solüsyonundan 50 mikrolitre, plakta bulunan her bir kuyuya konuldu.
11. Daha sonra konjugat çalışma solüsyonunu içeren mikropklara 50 mikrolitre plazma örneği ile 50 mikrolitre standart solüsyonu eklendi.
12. Mikropklar bir dakika boyunca karıştırıldı ve üstleri kapalı ve gün ışığı görmeyecek şekilde oda sıcaklığında, 120 dakika inkübe edildi.
13. “*Wash Buffer*” çalışma solüsyonu distile su ile sulandırılarak hazırlandı.
14. Mikropklar 400 mikrolitre yıkama solüsyonu ile dolduruldu ve 7-8 kez yıkandı.
15. Yıkama işleminden sonra plaklar ters çevrildi ve absorban kağıt üzerine vurularak kalan yıkama tamponunun da akıtılması sağlandı.
16. Süre sonunda her bir kuyuya 50 mikrolitre “*enzim durdurma solüsyonu*” konuldu.

17. Her mikropłaktaki plazma örneğinin IFN- γ konsantrasyonunun (IU/mL) belirlenmesi için 450 nanometre (nm) ana dalga boyunda ve 620 nm ila 650 nm arasında referans dalga boyları kullanıldı ve optik dansite değerleri hesaplandı.
18. Hesaplanan optik dansite değerleri QuantiFERONR-TB Gold IT Analiz Yazılımı kullanılarak sonuçlar hesaplandı.
19. QuantiFERONR-TB Gold IT Analiz Yazılımı, test sonuçlarını Tablo III' e göre hesapladı.

Tablo III: Quantiferon TB-Gold Testinin Değerlendirilmesi

Nil (IU/ mL)	Mitojen-Nil (IU/ mL)	ESAT-6-Nil ve/ veya CFP- 10-Nil (IU/ mL)	Quantiferon TB-Gold Testi	Açıklama
≤ 8.0	≥ 0.5	< 0.35	negatif	M. tbc. enfeksiyonu olası değil
	≥ 0.5	≥ 0.35 ve $< \text{Nil}$ değerinin %25' i		
	Her Türlü	≥ 0.35 ve $\geq \text{Nil}$ değerinin %25' i	pozitif	M. tbc. enfeksiyonu olasılığı yüksek
	< 0.5	< 0.35	belirsiz	Sonuçlar TB-antijen cevabına göre belirsizdir
	< 0.5	≥ 0.35 ve $< \text{Nil}$ değerinin %25' i		
> 8.0	Her Türlü	Her Türlü		

3.2.2. T-SPOT.TB Testi

1. Her hastadan 7 mililitre (mL) kan örneği alınarak lityum heparinli tüplere konuldu. Kan örneği alımından hemen sonra ve ayırım aşamasına başlamadan önce tüpler 8-10 kez tersyüz edildi.
2. Bu tüpteki kanın 5 mililitresi falkon tüpüne aktarıldı ve üzerine 3 mL RPMI eklendi.

3. Falkon tüpündeki karışım 5-6 kez tersyüz edildi, ardından “*Leucosept*” tüpüne aktarıldı.
4. “*Leucosept*” tüpleri oda sıcaklığında tutuldu ve 1000 RCF’ de 10 dakika santrifüj edildi.
5. Pasteur pipet ucu kullanarak “*Leucosept*” tüpünden bulanık tabaka alındı ve 15 mL’ lik temiz santrifüj tüplerine transfer edildi.
6. Birinci yıkamada RPMI kullanıldı ve miktar arttırılarak 10 mL’ ye çıkıldı. Tüp 3-4 kez ters yüz edildi ve 600 RCF’ de 7 dakika 18-25°C’ de santrifüj edildi.
7. Santrifüjden çıkardıktan sonra supernatant boşaltıldı ve pellet yavaşça 1 mililitre RPMI içinde süspanse edildi.
8. İkinci yıkamada da RPMI kullanıldı ve miktar arttırılarak 10 mL’ ye çıkıldı. Tüp 3-4 kez ters yüz edildi ve 350 RCF’ de 7 dakika 18-25°C’ de santrifüj edildi.
9. Tüpler santrifüjden çıkardıktan sonra supernatant boşaltıldı ve pellet yavaşça 0.7 mL AIM-V içinde yeniden süspanse edildi.
10. Hücreler, %0.4 tripan mavisini eklenerek 1/5 oranında dilüsyonla sayım için hazırlandı.
11. Tripan mavisini/ hücre süspansiyonundan 10 mikrolitre alıp bir hemositometre üzerine pipetlendi.
12. Bir mikroskopla gözle görülebilen hücreler sayıldı ve 100 mikrolitrede 250,000 hücre olacak şekilde hücre dilusyonu hazırlandı.
13. Plak ambalajından çıkarıldı. Her nil kontrol kuyucuğuna 50 mikrolitre AIM-V (negatif), her A kuyucuğuna 50 mikrolitre Panel A (ESAT-6), her B kuyucuğuna 50 mikrolitre Panel B (CFP-10) ve her pozitif kontrol kuyucuğuna 50 mikrolitre Pozitif Kontrol eklendi.
14. Örnek başına kullanılan dört kuyucuğun herbirine hazırlanmış olan hücre dilüsyonundan 100 mikrolitre eklendi.
15. Plaklar 37°C’ de %5’ lik CO₂ etüvünde 16-20 saat arasında inkübe edildi.
16. İnkübasyondan sonra dört defa “*phosphate buffered saline*” ile yıkama yapıldı.
17. Onbeş mililitre tüpe 5 mililitre “*phosphate buffered saline*” konularak üzerine 25 mikrolitre “*Konjugat Reagent*” eklendi ve hazırlanan solüsyondan her bir kuyucuğa 50 mikrolitre konuldu ve bir saat boyunca buzdolabı kapağında 2-8°C’ de inkübe edildi.
18. Dört kez “*phosphate buffered saline*” ile yıkama yapıldı.

19. Substrat solüsyonundan her çukur içine 50 mikrolitre eklendi ve oda sıcaklığında 10-15 dakika bekletilerek noktaların oluşması beklendi.
20. Plaklar distile su ile iki kez yıkanarak reaksiyon durduruldu.
21. Plakların bir gece boyunca oda sıcaklığında kuruması beklendikten sonra mikroskop ile her kuyucuktaki noktalar sayılarak test değerlendirildi.
22. Negatif kontroldeki nokta sayısı 5 veya daha az sayıda ise;
 - a. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontrolden 6 fazla ise test pozitif olarak kabul edildi.
 - b. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontrolden ≤ 5 daha fazla ise test negatif olarak kabul edildi.
 - c. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontrolden ≤ 5 daha fazla değilse pozitif kontrole bakıldı ve 20 veya üzerindeki nokta varlığında test negatif olarak kabul edildi.
 - d. Pozitif kontroldeki nokta sayısı 20' den az ise test anlamsız olarak değerlendirildi.
23. Negatif kontrolde nokta sayısı 6-10 arasında ise;
 - a. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontrolün iki katı veya iki katının üzerinde ise test pozitif olarak kabul edildi.
 - b. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontrolün iki katı veya iki katının üzerinde değil ve pozitif kontrol kuyucuğunda 20 ve üzerinde nokta varsa test negatif olarak değerlendirildi.
 - c. Pozitif kontroldeki nokta sayısı 20' den az ise test belirsiz olarak değerlendirildi.
24. Negatif kontrolde nokta sayısı 11-20 arasında ise;
 - a. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontrolün üç katı veya üç katının üzerindeyse test pozitif olarak kabul edildi.
 - b. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontrolün iki katının altında ve pozitif kontrol kuyucuğunda 20 ve üzerinde nokta varsa test negatif olarak kabul edildi.
 - c. Pozitif kontroldeki nokta sayısı 20' den az ise test belirsiz olarak değerlendirildi.
 - d. Panel A veya Panel B' deki nokta sayısı negatif kontroldeki nokta sayısında fazla değilse negatif olarak değerlendirildi.

25. Negatif kontrolde nokta sayısı 20 ve üzerinde ise sonuç negatif olarak değerlendirildi.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Science, version 17.0) kullanılarak değerlendirildi.

Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı ve değişkenlerin sensitivite ile spesifiteleri hesaplandı. Tanımlayıcı istatistikler n (%) şeklinde gösterildi. TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testleri arasındaki uyum Kappa analizi ile karşılaştırıldı. p değeri <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER

Bu çalışmaya katılan 49 hastanın, 27' sinde RA, 22' sinde AS bulunmaktaydı. Hastaların 20' si erkek (%40.8), 29' u kadın (%59.2) olup, yaş ortalamaları 47.87 ± 11.16 (23-71 yıl) idi. Değerlendirmeye alınan ve romatolojik hastalığı nedeniyle TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan 49 hastanın 24' ünde bilinen ek bir hastalık yoktu. Kalan 25 hastanın 5' inde Tip 2 diyabet, 14' inde hipertansiyon, 3' ünde osteoporoz, birer hastada da kronik böbrek yetmezliği, hipotiroidi ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı bulunmaktaydı. Çalışmaya alınan 49 hastanın birinde (%2) BCG skarı yoktu. Geri kalan 48 hastada (%98) BCG skarı bulunmaktaydı. Otuzüç hastada steroid kullanım öyküsü mevcuttu ve kullanılan ortalama steroid dozu 6.79 miligramdı. Hastalara ait demografik veriler Tablo IV' te gösterilmiştir.

Tablo IV: Olgulara ait demografik veriler

Demografik Özellikler	n (%)
Erkek/ Kadın	20 (%40.8)/ 29 (%59.2)
Yaş ortalaması	47.87±11.16
Romatoid artrit	27 (%55.1)
Ankilozan spondilit	22 (%44.9)
Ek Hastalık	25 (%51.02)
• Tip 2 Diabetes Mellitus • Hipertansiyon • Diğer	5 (%10.2) 14 (%28.57) 6 (%12.24)
BCG skarı	49 (%100)
• Var • Yok	48 (%98) 1 (%2)
Steroid kullanım kullanım öyküsü	33 (%67.3)
Kullanılan ortalama steroid dozu	6.79 mg

Çalışmaya katılan 49 hastanın 3'ünde (%6.1) Quantiferon TB-Gold, 5'inde (%10.2) T-SPOT.TB test sonucu belirsiz olarak saptandı ve bu hastalar değerlendirme dışı bırakıldı. Hastalara ait test sonuçları Tablo V' te gösterilmiştir.

Tablo V: Hastalara ait TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB test sonuçları

Test sonuçları	n (%)
TDT	49 (%100)
• Pozitif • Negatif	30 (%61.2) 19 (%38.8)
Quantiferon TB-Gold	46 (%93.9)
• Pozitif • Negatif	7 (%14.3) 39 (%79.6)
T-SPOT.TB	44 (%89.8)
• Pozitif • Negatif	16 (%32.7) 28 (%57.1)

Romatizmal hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda BCG skar sayısına göre TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testleri karşılaştırıldı.

BCG skarı olmayan bir hastada TDT negatif iken, bir adet BCG skarı olan 30 hastanın 20' sinde (%66.7), iki adet BCG skarı olan 15 hastanın 7' sinde (%46.7) ve üç adet BCG skarı olan 3 hastanın ise hepsinde TDT pozitif. BCG skar sayısı ile TDT sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.176$).

BCG skarı olmayan bir hastada Quantiferon TB-Gold testi pozitif iken, bir adet BCG skarı olan 30 hastanın 5' sinda (%16.7), iki adet BCG skarı olan 15 hastanın 1' inde (%6.7) Quantiferon TB-Gold testi pozitif. Üç adet BCG skarı olan 3 hastanın hepsinde Quantiferon TB-Gold testi negatif. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.778$).

BCG skarı olmayan bir hastada T-SPOT.TB test sonucu negatifti. Bir adet BCG skarı olan 30 hastanın 10' unda (%33.3), iki adet BCG skarı olan 15 hastanın 4' ünde (%26.7) T-SPOT.TB test sonucu pozitif, üç adet BCG skarı olan 3 hastanın 1 (%33.3)' inde ise T-SPOT.TB test sonucu negatifti. BCG skar sayısı ile T-SPOT.TB test sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.612$).

TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testinin BCG skar sayısına göre değerlendirilmesi Tablo VI' da gösterilmiştir. Veriler Ki-Kare testi ile analiz edilmiş ve tanımlayıcı istatistikler n (%) biçiminde gösterilmiştir.

Tablo VI: TDT, Quantiferon TB-Gold test ve T-SPOT.TB testinin BCG skar sayısına göre dağılımı

		BCG skar sayısı				Toplam n (%)
		Yok n (%)	Bir n (%)	İki n (%)	Üç n (%)	
TDT	pozitif	0 (%0)	20 (%66.7)	7 (%23.3)	3 (%10)	30 (%100)
	negatif	1 (%66.7)	10 (%66.7)	8 (%66.7)	0 (%0)	19 (%100)
Quantiferon TB-Gold testi	pozitif	1 (%14.3)	5 (%71.4)	1 (%14.3)	0 (%0)	7 (%100)
	negatif	0 (%0)	25 (%64.1)	11 (%28.2)	3 (%7.7)	39 (%100)
T-SPOT.TB testi	pozitif	0 (%0)	10 (%62.5)	4 (%25)	2 (%12.5)	16 (%100)
	negatif	1 (%3.6)	17 (%60.7)	9 (%32.1)	1 (%3.6)	28 (%100)

TDT sonucu negatif olan 17 hastanın 15'inde Quantiferon TB-Gold testi negatif olarak bulundu ve testin spesifitesi %88.2 olarak saptandı. TDT sonucu pozitif olan 29 hastanın 5' inde ise Quantiferon TB-Gold test sonucu pozitif saptandı ve sensitivite %17.2 olarak değerlendirildi (Tablo VII).

Tablo VII: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda Quantiferon TB-Gold test ve TDT' nin birbirine göre dağılımı

		Quantiferon TB-Gold Testi		Toplam n (%)
		Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
TDT	Pozitif	5 (%71.4)	24 (%61.5)	29 (%63)
	Negatif	2 (%28.6)	15 (%38.5)	17 (%37)
Toplam n (%)		7 (%100)	39 (%100)	46 (%100)

TDT ile Quantiferon TB-Gold testi kendi arasında karşılaştırıldığında, her iki testin pozitif olduğu 5 (%10.9), her iki testin negatif olduğu 15 (%32.6), TDT' nin negatif, Quantiferon TB-Gold testinin pozitif olduğu 2 (%4.3) ve TDT' nin pozitif, Quantiferon TB-Gold testinin negatif olduğu 24 (%52.2) hasta mevcuttu. Her iki test arasındaki uyum düşük düzeyde uyum ($\kappa=0.043$) olarak değerlendirildi.

TDT sonucu pozitif olan 28 hastanın 9' unda ise T-SPOT.TB test sonucu pozitif. Testin sensitivitesi %32.1 olarak bulundu. TDT sonucu negatif olan 16 hastanın 9' unda ise T-SPOT.TB testi negatif ve testin spesifitesi %56.3 olarak saptandı. (Tablo VIII).

Tablo VIII: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda TDT ve T-SPOT.TB test sonuçlarının dağılımı

		T-SPOT.TB Testi		Toplam n (%)
		Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
TDT	Pozitif	9 (%56.2)	19 (%67.9)	28 (%63.6)
	Negatif	7 (%43.8)	9 (%32.1)	16 (%36.4)
Toplam n (%)		16 (%100)	28 (%100)	44 (%100)

TDT ve T-SPOT.TB testi arasındaki uyum değerlendirildiğinde $\kappa=0.1$ idi ve testler düşük düzeyde uyum göstermekteydi.

Çalışmaya alınan hastalar, romatolojik hastalıklarına göre alt guruplarda değerlendirildi ve TDT ile Quantiferon TB-Gold test sonuçları karşılaştırıldı. RA tanılı 2 hastanın Quantiferon TB-Gold test sonucu belirsizdi. Bu grupta değerlendirilen 25 hastanın 2' sinde (%8) TDT ve Quantiferon TB-Gold test sonucu pozitif, 10 hastada (%40) her iki test sonucu negatifti. TDT sonucu pozitif, Quantiferon TB-Gold test sonucu negatif olan RA tanılı hasta sayısı 11 (%44) ve TDT sonucu negatif, Quantiferon TB-Gold test pozitif olan RA tanılı hasta sayısı ise 2 (%8) idi (Tablo IX).

Tablo IX: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan romatoid artrit tanılı hastalarda TDT ve Quantiferon TB-Gold test sonuçlarının dağılımı

		Quantiferon TB-Gold Testi		Toplam n (%)
		Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
TDT	Pozitif	2 (%50)	11 (%52.4)	13 (%52)
	Negatif	2 (%50)	10 (%47.6)	12 (%48)
Toplam n (%)		4 (%100)	21 (%100)	25 (%100)

RA tanılı hastalar, TDT ile değerlendirildiğinde Quantiferon TB-Gold testinin sensitivitesi %15.4, spesifitesi %83.3 olarak bulundu.

RA tanılı 3 hastanın T-SPOT.TB test sonucu belirsizdi. Bu grupta değerlendirilen 24 hastanın 8' ünde (%33.3) TDT ve T-SPOT.TB test sonucu pozitif, 6 hastada (%25) her iki test sonucu negatifti. TDT sonucu pozitif, T-SPOT.TB test sonucu negatif olan RA tanılı hasta sayısı 6 (%25) ve TDT sonucu negatif, T-SPOT.TB test pozitif olan RA tanılı hasta sayısı ise 4 (%16.7) idi (Tablo X).

Tablo X: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan romatoid artrit tanılı hastalarda TDT ve T-SPOT.TB test sonuçlarının dağılımı

		T-SPOT.TB Testi		Toplam n (%)
		Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
TDT	Pozitif	8 (%66.7)	6 (%50)	14 (%58.3)
	Negatif	4 (%33.3)	6 (%50)	10 (%41.7)
Toplam n (%)		12 (%100)	12 (%100)	24 (%100)

RA' lı hastalarda, TDT ile değerlendirildiğinde T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %57.1 ve spesifitesi %60' tı.

TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan AS tanılı hastalarda TDT ve Quantiferon TB-Gold test sonuçlarının dağılımı Tablo XI' de belirtilmiştir. AS tanısı olan bir hastada Quantiferon TB-Gold test sonucu belirsizdi ve bu grupta 21 hasta değerlendirildi.

TDT ile değerlendirildiğinde Quantiferon TB-Gold testinin sensitivitesi %18.8, spesifitesi %100 olarak bulundu. Her iki test arasındaki uyum düşük düzeyde uyum olarak değerlendirildi ($\kappa=0.099$).

Tablo XI: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan ankilozan spondilit tanılı hastalarda TDT ve Quantiferon TB-Gold test sonuçlarının dağılımı

		Quantiferon TB-Gold Testi		Toplam n (%)
		Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
TDT	Pozitif	3 (%100)	13 (%72.2)	16 (%76.2)
	Negatif	0 (%0)	5 (%27.8)	5 (%23.8)
Toplam n (%)		3 (%100)	18 (%100)	21 (%100)

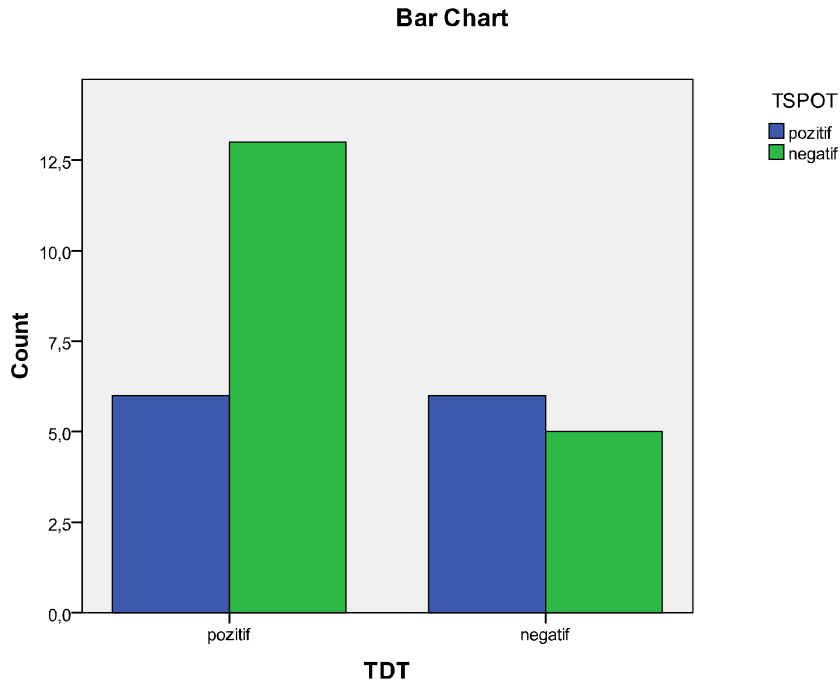
AS tanılı hastalarda 2 hastanın T-SPOT.TB test sonucu belirsizdi. Bu grupta, TDT ile değerlendirildiğinde T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %7.1 ve spesifitesi %50 idi (Tablo XII). Her iki test arasında uyum düşüktü ($\kappa=0.29$).

Tablo XII: TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan ankilozan spondilit tanılı hastalarda TDT ve T-SPOT.TB test sonuçlarının dağılımı

		T-SPOT.TB Testi		Toplam n (%)
		Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
TDT	Pozitif	1 (%25)	13 (%81.2)	14 (%70)
	Negatif	3 (%75)	3 (%18.8)	6 (%30)
Toplam n (%)		4 (%100)	16 (%100)	20 (%100)

Hastaların 33' ü (%67.3) sistemik steroid tedavisi almaktaydı ve kullanılan ortalama steroid dozu 6.79 mg idi. Steroid tedavisi alan hastaların 12' sinde TDT, 28' inde Quantiferon TB-Gold ve 18' inde T-SPOT.TB testi negatifti. Steroid tedavisi ile TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB test negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0.05$).

Steroid kullanan hastalar TDT ile değerlendirildiğinde, Quantiferon TB-Gold testin sensitivitesi %10, spesifitesi %90.9 olarak bulundu. Steroid kullanan hastalarda T-SPOT.TB testi için ise sensitivitesi %31.6 ve spesifitesi %45.5 olarak hesaplanmıştır (Şekil 2).



Şekil 2: Steroid tedavisi alan hastalarda TDT ve T-SPOT.TB test sonuçlarının dağılımı

5. TARTIŞMA

TNF bloke edici ajanlardan infliximab, etanercept ve adalimumab ülkemizde yaklaşık 10 yıldan beri kullanılmaktadır. Bu ajanların kullanıma girmesi ile birlikte inflamatuvar romatizmal hastalıkların tedavisinde büyük bir gelişme olmuştur. Tedavi ile birlikte RA' da klinik remisyon daha kolay hale gelmiştir. Psöriatik artritte klasik tedaviye dirençli hastalarda etanercept, infliximab ve adalimumab klinik bulguları anlamlı şekilde baskılamış olup AS' de de TNF bloke edici ajanlarla tedavi oranları yüksektir (24). TNF bloke edici ajan tedavisi alan hastalarda çeşitli yan etkiler görülebilir. Yapılan çalışmalarda bu ajanların kullanımı sırasında ciddi enfeksiyonların görüldüğü saptanmıştır (31). Klasik DMARD kullanan hastalara oranla enfeksiyon risk 1-3 kat artmış olup gözlenen enfeksiyonlardan biri latent tüberküloz enfeksiyonunun aktivasyonudur.

Dünya nüfusunun ucte birinin tüberküloz basili ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Küresel insidans artmakla birlikte dünyada bu oran 140/100.000, ülkemizde 26/100.000 dir (41). Uzun süre infliximab tedavisi alan RA' lı hastalarda ise tüberküloz insidansı 24/100.000 olarak rapor edilmiştir (65). Bu nedenle tedaviye başlamadan önce hastalar latent ya da aktif tüberküloz açısından taranmaktadır (32).

TNF bloke edici ajan tedavisi öncesinde latent tüberküloz enfeksiyonunun taranması standart hale gelmiştir. Latent tüberküloz enfeksiyonunun tanısında kullanılan TDT testinin uygulama ve yorumlamasında hatalar olabilir (3-5). Bu nedenle alternatif tanı yöntemleri gündeme gelmiştir. İnterferon- γ bazlı testlerin (IGRA) yanlış pozitiflik oranının düşük olması, BCG aşılmasından etkilenmemesi ve booster etkisinin gözlenmemesi gibi üstünlükleri vardır. Tanıda iki tür IGRA testi kullanılabilir. Bunlar QuantiFERON-TB Gold ve T-SPOT.TB testidir (6-8).

TDT ve IGRA testlerinin spesifite, sensitive ve uyumluluğunun değerlendirildiği birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda IGRA testleri ile TDT arasındaki ilişkiler rapor edilmiştir (67-71). Biz bu çalışmada, romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda latent tüberküloz tanısında TDT ile QuantiFERON- TB Gold, T-SPOT.TB test arasındaki uyumluluk, spesifite ve sensitiviteyi değerlendirmeyi amaçladık.

Aktif tüberküloz gelişme riskinin yüksek olduğu popülasyonlarda TDT sonucu yalancı pozitif bulunabilir ve burada IGRA testleri yararlı olabilir. Bu nedenle bazı kılavuzlarda testlerin tek başına değil, kombine uygulanması önerilmektedir (72,73).

Testler için yapılan karşılaştırmalarda popülasyon özellikleri farklı olduğu için kesin bir sonuç çıkartmak güçtür (74,75).

Türkiye ve İngiltere gibi ülkelerde tüberküloz enfeksiyonu endemik seyretmekte, BCG aşılama oranları dünyanın değişik bölgelerinde %4 ile %100 arasında değişmektedir (76). TNF bloke edici ajan tedavisi öncesinde latent tüberküloz enfeksiyonunun taranmasında değişik ülkeler değişik önerilerde bulunmuş ve farklı stratejiler geliştirmiştir.

TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda latent tüberküloz enfeksiyonu taranmasında Portekiz ve İspanyada bir kez TDT, Amerika Birleşik Devletleri iki kez TDT' yi uygulamaktayken, İsviçre ve Almanya birinci basamakta TDT' yi kullanmamaktadır. Almanya kılavuzları birinci basamakta IGRA testlerini önermekte, TDT' yi ise IGRA testlerinin negatif olması durumunda uygulamaktadır (72). İsviçre kılavuzları sadece IGRA, Polonya kılavuzları ise TDT sonrasında IGRA testlerini önermektedir (77). Kanada kılavuzları, latent tüberküloz enfeksiyonunun taranması için, öncelikle TDT' yi önermekte, TDT' nin negatif gelmesi ya da klinik olarak tüberküloz enfeksiyonunda şüphe olması halinde IGRA testlerinin yapılmasını önermektedir (73). Avrupa Solunum Derneği ise BCG ile aşılanmış kişilerde TDT değil IGRA testlerini önermektedir (78). Fransa' da latent tüberküloz enfeksiyonu taramasında öykü, fizik muayene, akciğer grafisi ile TDT önerilmektedir (65). Yapılan bir çalışmada, bu şekilde tarama ile TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan 124 spondilartirit ve 92 RA tanılı hastaya tüberküloz kemoproflaksisi başlanmış ve takip edilen birinci yılda genel popülasyonda hiçbir hastada tüberküloz enfeksiyonu gözlenmemiştir (79).

Bazı BCG aşısı olmamış vakalarda TDT pozitif olduğu halde negatif IGRA test sonuçları olabilir. Bu durum mikobakterium dışı tüberküloz etkenleri ile karşılaşma ile açıklanabilir (79). Bizim çalışmamızda bir hastada BCG skarı yoktu. Bu hastada TDT ve T-SPOT.TB test sonucu negatif iken Quantiferon TB-Gold test sonucu ise pozitif. Çalışmamızda, hastalar BCG skar sayılarına göre guruplara ayrılmış ve testler değerlendirilmiştir. BCG skarının varlığı BCG aşılmasını göstermekle birlikte aşılanmış ancak BCG skarı oluşmayan vakalar da bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda BCG aşısı ile %90 oranda skar oluştuğunu bildirilmiştir (80). Çalışmamıza alınan hastaların %98' inde BCG skarı bulunmaktaydı. Lewinsohn ve arkadaşlarının (81) yaptığı çalışmada, önceden yapılmış BCG aşılması ve gelişen skarının TDT sonuçlarını etkilemediği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada BCG skar sayısı ile TDT arasında anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır (82).

Brock ve arkadaşları (68) BCG skar sayısı ile QuantiFERON-TB testi arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Aşılı olan bireylerde QuantiFERON-TB testinin BCG aşılmasından etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da BCG skar sayısı ile QuantiFERON-TB testi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0.05$). Çalışmamıza göre, romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda IGRA testleri BCG aşısından ve skar sayısından etkilenmediği için TDT' ye alternatif olarak kullanılabilir.

IGRA testleri ile TDT' nin karşılaştırıldığı çalışmalarda farklı uyum aralıkları saptanmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda TDT ile QuantiFERON-TB testi arasında yüksek uyum olduğu bildirilmiştir (70,75). Romatolojik hastalığı bulunan ve 150 hastada yapılan bir çalışmada TDT 5 mm ve üzerinde olan 27 (%18), T-SPOT.TB testi pozitif olan 14 (%9.8), QuantiFERON-TB Gold testi pozitif olan 5 (%7.1) hasta saptanmış ve IGRA testleri arasında yüksek uyum saptanmıştır (83). Bizim çalışmamızda TDT pozitif olan 30 (%61.2), T-SPOT.TB testi pozitif olan 16 (%32.7) ve QuantiFERON- TB Gold testi pozitif olan 7 (%14.3) hasta bulunmaktaydı. Latent tüberküloz enfeksiyonunun saptanmasında, TDT ile QuantiFERON-TB test ve TDT ile T-SPOT.TB testi arasındaki uyumun düşük olduğu çalışmalarda bildirilmiştir (71,84,85). Kleinert ve arkadaşlarının (86) romatolojik hastalığı olan 90 kişide yaptığı bir çalışmada TDT %11.1, QuantiFERON-TB Gold testi %8.9 ve T-SPOT.TB testi %7.8 oranında pozitif saptanmış. Aynı çalışmada testler arasında da orta düzeyde uyum bulunmuştur. Chang ve arkadaşlarının (87) yaptığı başka bir çalışmada TNF bloke edici ajan tedavisi alan 61 AS ve 46 RA tanılı hastada TDT ve QuantiFERON-TB Gold test karşılaştırılmış ve bu çalışmada testler arasındaki uyum düşük bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, romatizmal hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan 27 RA ve 22 AS hastasında TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testleri arasındaki uyum karşılaştırılmış ve testler arasındaki uyum düşük düzeyde bulunmuştur. Uyumun düşük düzeyde olması rutin aşılama programına bağlı olabilir. Uyumluluk oranları tüberküloz yükünün farklı olduğu ülkelerde değişebilir.

Ülkemizde, BCG aşılarında 15 mm ve üzerindeki TDT değerleri latent tüberküloz enfeksiyonu olarak kabul edilmektedir. Aşılama sonrasında TDT yanıtı 0-19 mm arasında değişmekte ancak 15 mm ve üzerindeki çapların daha çok tüberküloz enfeksiyonunu yansıttığı görülmektedir (76).

AIDS, diabetes mellitus, lenfoma ve lösemi gibi hematolojik maligniteler, kronik malabsorbsiyon sendromları, kronik alkolizm, pnömokonyoz, kronik böbrek yetmezliği, uzun süre yüksek doz kortikosteroid tedavi alan kişiler (2-4 hafta süreyle, günde 15 mg ve üstü prednizon dozuna eşdeğer steroid dozları) bağışıklığı baskılanmış olarak değerlendirilir.

Bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5 mm ve üzeri pozitif olarak kabul edilmektedir (3-5). Bizim çalışmamızda, TDT çapı 5 mm ve üzeri olan 30 (%61.2) hasta bulunmaktaydı.

Latent tüberküloz enfeksiyonunun tanısında kullanılan TDT' nin spesifite ve sensitivitesi toplumlar arasında farklılık gösterebilir. Mrozek ve arkadaşlarının (88) yaptığı çalışmada QuantiFERON-TB ve T-SPOT.TB testin sensitivitesi sırasıyla % 79 ve % 84 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda latent tüberküloz enfeksiyonunun taranmasında IGRA testlerinin sensitivitesi %84.9 olarak bildirilmiştir (70). Streeton ve arkadaşları (67) latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında QuantiFERON-TB Gold testinin TDT' ye göre daha spesifik ve sensitif olduğunu bildirmiştir. Aktif tüberkülozu olan hastalarda yapılan bir çalışmada, sensitivite TDT' de %83, QuantiFERON-TB Gold testinde %80 ve T-SPOT.TB testinde %58 bulunmuştur (89). HIV pozitif ve negatif hastalarda yapılan başka bir çalışmada T-SPOT.TB testinin latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında TDT' ye göre daha spesifik ve sensitif olduğu saptanmıştır (90). Lalvani ve arkadaşları (91) tanı konulmuş tüberkülozlu hastalarda TDT' nin sensitivitesini %69 ve T-SPOT.TB testinin sensitivitesini %96 olarak bildirmiştir. Bir başka çalışmada prospektif olarak 218 kişide (87' si aktif tüberküloz, 131' i risk grubu) TDT ile IGRA testleri karşılaştırmıştır (92). QuantiFERON-TB testinin spesivitesi %91.6, T-SPOT.TB testinin spesivitesi ise %84.7 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan planlanan 49 hastada TDT, QuantiFERON-TB Gold ve T-SPOT.TB testinin spesifite ve sensitivitesi değerlendirildi ve Quantiferon TB-Gold testinin spesifitesi %88.2, sensitivitesi %17.2 olarak değerlendirildi. T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %32.1 ve spesifitesi %56.3 olarak saptandı. Çalışmaya alınan hastalar, romatolojik hastalıklarına göre alt guruplarda da değerlendirildi. RA tanılı hastalar, TDT ile değerlendirildiğinde Quantiferon TB-Gold testinin sensitivitesi %15.4 ve spesifitesi %83.3; ve T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %57.1, spesifitesi %60 olarak bulundu. AS tanısı olan hastalarda ise Quantiferon TB-Gold testinin sensitivitesi %18.8 ve spesifitesi %100; T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %7.1 ve spesifitesi %50 olarak saptandı.

Çalışmamızda IGRA testleri TDT ile değerlendirildiğinde, TDT' e göre daha spesifik olduğu saptanmıştır. Sonuçlarımıza göre TDT pozitif hastalarda, QuantiFERON-TB Gold ve T-SPOT.TB test sonuçları daha yüksek oranda pozitif saptanmıştır. Bu durumda TDT pozitif gruptan çok, TDT negatif grupta IGRA testleri öncelikli olarak değerlendirilebilir.

Kleinert ve arkadaşları (86) 7.5 mg ve üzerinde prednisolon eşdeğeri steroid kullanan hastalarda, QuantiFERON-TB Gold test sonuçları ile anlamlı bir ilişki saptamıştır. Diğer taraftan, Bartalesi ve arkadaşları (93) ise otoimmün hastalık nedeniyle steroid kullanan hastalarda QuantiFERON-TB Gold test sonuçları arasında ilişki olmadığını bildirmiştir. Bazı çalışmalarda IGRA testlerinin doza bağımlı olarak ve yüksek dozda prednisolondan etkilendiği rapor edilmiştir (94). Bizim çalışmamızda hastaların 33' ünde (%67.3) sistemik steroid kullanım öyküsü mevcut olup ortalama steroid kullanım 6.79 mg prednisolondur. Immunosupresif tedavinin TDT ve QuantiFERON-TB Gold test üzerine etkisini belirlemek için düşük doz steroid tedavisi alan 101 RA hastasında yapılan çalışmada QuantiFERON-TB Gold testinde anlamlı farklılık saptanmamıştır (95). Bunun aksine, Greenberg ve arkadaşlarının (96) 61 RA hastasında yaptığı çalışmada QuantiFERON-TB Gold sonuçları RA hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmış ve anlamlı farklılık bulunmuştur. İmmünsüpresyon durumlarında Quantiferon TB-Gold test pozitiflik oranının azaldığı bildirilmiştir (97). Bizim çalışmamızda steroid tedavisi alan hastaların 12' sinde TDT, 28' inde Quantiferon TB-Gold ve 18' inde T-SPOT.TB testi negatifti. Steroid tedavisi ile TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB test negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

Romatolojik hastalığı olan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda, latent tüberküloz enfeksiyonunun taranmasında, riskli kişilerde TDT ile IGRA testleri yapılabilir. Özellikle, TDT sonucu negatif olan grupta IGRA testleri öncelikli olarak değerlendirilmelidir. Çalışmamızın limitasyonunu hasta sayısının düşük olması oluşturmaktaydı. Bununla birlikte, çalışmamızda bildirilen sonuçların literatürdeki bulgularla birlikte değerlendirildiğinde tutarlı olması değerli olabileceği sonucunu göstermektedir.

6. SONUÇLAR

- Latent tüberküloz enfeksiyonunun taranması TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda TDT ile olmaktadır. Ancak testin spesifite ve sensitivitesi tartışmalı olup yalancı pozitif ve negatiflik durumları vardır. Tarama ile enfekte bireylerin saptanması için aşılama ile sonuçların etkilenmediği daha spesifik ve sensitif testlere ihtiyaç vardır.

- Çalışmamızda, BCG skar sayısı ile TDT, Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0.05$). IGRA testleri BCG ile ortak antijen taşımadığı için daha önceden yapılan aşılamalardan etkilenmemiştir. Buna bağlı olarak tanıda latent tüberküloz enfeksiyonunun taranması ve tanısında TDT' ye alternatif olarak kullanılabilir.

- TDT ile değerlendirildiğinde Quantiferon TB-Gold testinin spesifitesi %88.2, sensitivitesi %17.2; T-SPOT.TB testinin spesifitesi %32.1, sensitivitesi %56.3 olarak saptandı. RA tanılı hastalarda, TDT ile değerlendirildiğinde Quantiferon TB-Gold testinin spesifitesi %83.3, sensitivitesi %15.4; T-SPOT.TB testinin spesifitesi %60, sensitivitesi %18.8 idi. AS tanılı hastalarda Quantiferon TB-Gold testinin sensitivitesi %18.8, spesifitesi %100; T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %7.1, spesifitesi %50 idi. Testler sensitivite ve spesifiteye bağlı olarak, romatizmal hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda latent tüberküloz enfeksiyonu taramasında kullanılabilir.

- Çalışmamızda, TDT ile Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testleri arasında düşük uyum saptandı. Uyumun düşük düzeyde olması rutin aşılama programına bağlı olabilir.

- Hastaların kullandığı ortalama steroid dozu 6.79 mg prednisolon olup steroid tedavisi ile test negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0.05$).

- Latent tüberküloz enfeksiyonu tanısı için kullanılan testlerle ilgili yapılan birçok çalışma bulunsada, en iyi stratejinin ne olduğu belirlemek ve testlerin gerçek sensitivite ve spesifitesini saptamak için daha birçok çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

ROMATOLOJİK HASTALIĞI BULUNAN VE TNF BLOKE EDİCİ AJAN TEDAVİSİ PLANLANAN HASTALARDA LATENT TÜBERKÜLOZ ENFEKSİYONUNUN SAPTANMASINDA TÜBERKÜLİN DERİ TESTİ, QUANTİFERON-TB GOLD TESTİ VE T-SPOT.TB TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Bu çalışmada, romatolojik hastalığı bulunan ve tümör nekroz faktör (TNF) bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda latent tüberküloz enfeksiyonu taramasında kullanılan Tüberkülin Deri Testi (TDT) ve bu teste alternatif yeni bir tanı aracı olarak kullanılabilen Quantiferon TB-Gold ve T-SPOT.TB testleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereçler ve Yöntem: Çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı İmmunoloji ve Romatoloji Bilim Dalına başvuran, romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan 49 hasta (20 erkek, 29 kadın) incelendi. Değerlendirmeye alınan hastaların yaşı, cinsiyeti, ek hastalıkları, kullandığı ilaçlar, BCG skar sayısı ile TDT, QuantiFERON-TB Gold ve T-SPOT.TB testlerinin sonuçları belirlendi. Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Science, version 17.0) programı kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Romatolojik hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastaların 27' sinde romatoid artrit (RA), 22' sinde ankilozan spondilit (AS) bulunmaktaydı ve yaş ortalamaları 47.87 ± 11.16 (23-71 yıl) idi. Hastaların birinde (%2) BCG skarı yoktu, geri kalan 48 hastada (%98) BCG skarı vardı ve kullanılan ortalama steroid dozu 6.79 mg prednisolondur. Latent tüberküloz enfeksiyonu prevalansı TDT ile %61.2, QuantiFERON-TB Gold testi ile %14.3 ve T-SPOT.TB testi ile %32.7 idi. BCG skar sayısı ile TDT ($p=0.176$), Quantiferon TB-Gold test ($p=0.778$) ve T-SPOT.TB test ($p=0.612$) sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Tüm hastalar ele alındığında Quantiferon TB-Gold testinin spesifitesi %88.2, sensitivitesi %17.2 ve T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %32.1, spesifitesi %56.3 olarak saptandı. Çalışmada alt grup değerlendirilmesi yapıldığında; RA tanılı hastalarda TDT' ye göre Quantiferon TB-Gold testinin sensitivitesi %15.4, spesifitesi %83.3 ve T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %57.1, spesifitesi %60 olarak bulundu.

AS tanısı olan hastalar değerlendirildiğinde ise Quantiferon TB-Gold testinin sensitivitesi %18.8, spesifitesi %100 ve T-SPOT.TB testinin sensitivitesi %7.1, spesifitesi %50 idi. TDT ile Quantiferon TB-Gold ($\kappa=0.043$) ve T-SPOT.TB testleri ($\kappa=0.1$) arasında düşük uyum vardı. Hastalarda kullanılan steroid tedavisi ile test negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0.05$).

Tartışma: İnterferon- γ bazlı testler BCG ile ortak antijen taşımadığı için daha önceden yapılan aşılamalardan etkilenmemektedir. Testler sensitivite ve spesifiteye bağlı olarak, romatizmal hastalığı bulunan ve TNF bloke edici ajan tedavisi planlanan hastalarda latent tüberküloz enfeksiyonu taramasında kullanılabilir. Ancak, testlerin gerçek sensitivite ve spesifitesini belirlemek için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: İnflamatuvar romatizmal hastalık, TNF bloke edici ajan, TDT, Quantiferon TB-Gold testi, T-SPOT.TB testi, latent tüberküloz enfeksiyonu

8. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

COMPARISON OF TUBERCULIN SKIN TEST, QUANTIFERON-TB GOLD TEST AND T-SPOT.TB TEST IN PATIENTS WITH RHEUMATIC DISEASES PLANNED TO RECEIVE TNF BLOCKING AGENTS FOR THE IDENTIFICATION OF LATENT TUBERCULOSIS INFECTION

Objective: We aimed to compare Tuberculin Skin Test (TST) and QUANTIFERON-TB GOLD test and T-SPOT.TB test as new diagnostic tools that can be used in patients with rheumatic diseases planned to receive tumor necrosis factor (TNF) blocking agents for the identification of latent tuberculosis infection in this study.

Materials and Method: In this study, 49 patients (20 male, 29 female) who applied to Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Immunology and had rheumatic diseases and planned to receive TNF blocking agents were analyzed. Age, sex, comorbidities, medications, number of BCG scar and TST, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT.TB test results were determined in the evaluated patients. The datas obtained from this study were evaluated with using SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Science, version 17.0) program.

Results: 27 patients had rheumatoid arthritis (RA), 22 patients had ankylosing spondylitis (AS) in the patients who had rheumatic diseases and planned to receive TNF blocking agents and the average age was 47.87 ± 11.16 (23-71 years). In one patient (2%) had no BCG scar, the remaining 48 patients (98%) had BCG vaccination and the mean steroid dose was 6.79 mg prednisolone. The prevalence of latent tuberculosis infection for TST was 61.2%, for QuantiFERON-TB Gold test was 14.3% and for T-SPOT.TB test was 32.7%. There was no statistically significant difference between the results of number of BCG scar and TST ($p=0.176$), Quantiferon TB-Gold test ($p = 0.778$) and T-SPOT.TB test ($p = 0.612$).

Considering all patients, Quantiferon TB-Gold test specificity was 88.2%, sensitivity was 17.2% and the T-SPOT.TB test sensitivity was 32.1%, specificity was 56.3%. Evaluation of sub-group of the study was as follows; Evaluation of sub-group of the study is as follows; QuantiFERON-TB Gold test sensitivity was 15.4%, specificity was 83.3% and the T-SPOT.TB test sensitivity was 57.1%, specificity was 60% according to TDT in patients with RA.

Evaluated in patients with a diagnosis of AS, Quantiferon TB-Gold test the sensitivity was 18.8%, specificity was 100% and sensitivity of T-SPOT.TB test was 7.1%, specificity was 50%. There was low agreement between TDT and Quantiferon TB-Gold ($\kappa=0.043$) and the T-SPOT.TB test ($\kappa=0.1$). There was no statistically significant relationship between steroid therapy and negative test results ($p>0.05$).

Conclusion: Interferon- γ -based tests carrying no common antigens with BCG was previously not affected by vaccination. Tests can be used in patients with rheumatic diseases planned to receive TNF blocking agents for the identification of latent tuberculosis infection depending on the sensitivity and specificity. However, more studies are needed to determine the actual sensitivity and specificity.

Keywords: Inflammatory rheumatic diseases, TNF blocking agent, TST, Quantiferon TB-Gold test, T-SPOT.TB test, latent tuberculosis infection

9. KAYNAKLAR

1. Solovic I, Sester M, Gomez-Reino JJ, Rieder HL, Ehlers S, Milburn HJ, Kampmann B, Hellmich B, Groves R, Schreiber S, Wallis RS, Sotgiu G, Schölvink EH, Goletti D, Zellweger JP, Diel R, Carmona L, Bartalesi F, Ravn P, Bossink A, Duarte R, Erkens C, Clark J, Migliori GB, Lange C. The risk of tuberculosis related to tumour necrosis factor antagonist therapies: a TBNET consensus statement. *Eur Respir J*. 2010; 36: 1185-1206.
2. Fallahi-Sichani M, Flynn JL, Linderman JJ, Kirschner DE. Differential risk of tuberculosis reactivation among anti-TNF therapies is due to drug binding kinetics and permeability. *J Immunol* 2012; 188: 3169-78.
3. Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr. The tuberculin skin test *Clin Infect Dis* 1993; 17: 968–75.
4. Sokal JE. Measurement of delayed skin test responses. *N Engl J Med* 1975; 293: 501-2.
5. Pouchot J, Grasland A, Collet C. Reliability of tuberculin skin test measurement. *Annals of Internal Medicine* 1997; 126: 210-4.
6. Diel R, Goletti D, Ferrara G, Bothamley G, Cirillo D, Kampmann B, Lange C, Losi M, Markova R, Migliori GB, Nienhaus A, Ruhwald M, Wagner D, Zellweger JP, Huitric E, Sandgren A, Manissero D. Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and meta-analysis. *Eur Resp Soc* 2011; 37: 88-99.
7. Chang KC, Leung CC. Systematic review of interferon-gamma release assays in tuberculosis: focus on likelihood ratios. *Thorax* 2010; 65: 271-76.
8. Mrozek N, Pereira B, Soubrier M, Gourdon F, Laurichesse H. Screening of tuberculosis before biologics. *Med Mal Infect* 2012; 42: 1-4.
9. Skjot RL, Oettinger T, Rosenkrands I, Ravn P, Brock I, Jacobsen S, Andersen P. Comparative evaluation of low-molecular-mass proteins from *Mycobacterium tuberculosis* identifies members of the ESAT-6 family as immunodominant T-cell antigens, *Infect Immun* 2000; 68: 214-20.
10. Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, Garnier T, Gutierrez C, Hewinson G, Kremer K, Parsons LM, Pym AS, Samper S, van Soolingen D, Cole ST. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 3684-9.

11. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld GJ, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review *Pharmacol Ther* 2008; 117: 244-79.
12. Marmenout A, Fransen L, Tavernier J, Van der Heyden J, Tizard R, Kawashima E, Shaw A, Johnson MJ, Semon D, Muller R. Molecular cloning and expression of human tumor necrosis factor and comparison with mouse tumor necrosis factor. *Eur J Biochem* 1985; 152: 515-22.
13. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001; 104: 487-501.
14. Kılınç O. Tüberkülin deri testi, yorumu ve son gelişmeler. Kılınç O. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kitabı, Samsun: Otak-Form Ofset Basım, 2003, 12-9.
15. Scallon B, Cai A, Solowski N, Rosenberg A, Song XY, Shealy D. Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 301: 418-26.
16. Anderson PJ. Tumor necrosis factor inhibitors: clinical implications of their different immunogenicity profiles. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34: 19-22.
17. Shen C, Assche GV, Colpaert S, Maerten P, Ge-boes K, Rutgeerts P. Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 251-8.
18. Rycke L, Baeten D, Kruithof E, Vanden Bosch F, Veys EM, de Keyser F. Infliximab, but not etanercept, induces IgM anti-double stranded DNA autoantibodies as main antinuclear reactivity: biologic and clinical implications in autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2192-201.
19. Smolen JS, Han C, Bala M, Maini RN, Kalden JR, van der Heijde D, Breedveld FC, Furst DE, Lipsky PE. Evidence of radiographic benefit of treatment with infliximab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients who had no clinical improvement: a detailed subanalysis of data from the anti-tumor necrosis factor trial in rheumatoid arthritis with concomitant therapy study. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1020-30.
20. Smolen JS, Kay J, Doyle MK, Landewé R, Matteson EL, Wollenhaupt J, Gaylis N, Murphy FT, Neal JS, Zhou Y, Visvanathan S, Hsia EC, Rahman MU. GO-AFTER study investigators. Golimumab in patients with active rheumatoid arthritis after treatment with tumour necrosis factor alpha inhibitors (GO-AFTER study):

a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled phase-III trial. *Lancet* 2009; 374: 210-21.

21. Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, van Zeben D, Kerstens PJ, Hazes JM, Zwinderman AH, Ronday HK, Han KH, Westedt ML, Gerards AH, van Groenendael JH, Lems WF, van Krugten MV, Breedveld FC, Dijkmans BA. Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study): a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3381-90.
22. Klareskog L, van der Heijde D, de Jager JP, Gough A, Kalden J, Malaise M, Martín Mola E, Pavelka K, Sany J, Settas L, Wajdula J, Pedersen R, Fatenejad S, Sanda M. Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis: double blind randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 363: 675-81.
23. Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, Moreland LW, Weisman MH, Birbara CA, Teoh LA, Fischkoff SA, Chartash EK. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: the ARMADA trial. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 35-45.
24. Heiberg MS, Koldingsnes W, Mikkelsen K, Rødevand E, Kaufmann C, Mowinckel P, Kvien TK. The comparative one-year performance of anti-tumor necrosis factor alpha drugs in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis: results from a longitudinal, observational, multicenter study. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 234-40.
25. Breban M, Ravaud P, Claudepierre P, Baron G, Henry YD, Hudry C, Fuller-Ziegler L, Pham T, Solau-Gervais E, Chary-Valckenaere I, Marcelli C, Perdriger A, Le Loët X, Wendling D, Fautrel B, Fournié B, Combe B, Gaudin P, Jousse S, Mariette X, Baleyrier A, Trape G, Dougados M. Maintenance of infliximab treatment in ankylosing spondylitis: results of a one year randomized controlled trial comparing systematic versus on-demand treatment. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 88-97.
26. Gladman DD, Mease PJ, Ritchlin CT, Choy EH, Sharp JT, Ory PA, Perdok RJ, Sasso EH. Adalimumab for long-term treatment of psoriatic arthritis: forty-eight week data from the adalimumab effectiveness in psoriatic arthritis trial. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 476-88.

27. Bongartz T, Warren FC, Mines D, Matteson EL, Abrams KR, Sutton AJ. Etanercept therapy in rheumatoid arthritis and the risk of malignancies: a systematic review and individual patient data meta-analysis of randomised controlled trials. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1177-83.
28. Askling J, Raaschou P, van Vollenhoven R, Jacobsson L, Geborek P, Feltelius N. Anti- TNF therapy in RA and cancer risk: relation to duration of follow-up, cumulative treatment, and therapeutic response. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 52.
29. Olsen NJ, Stein CM. New drugs for rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2004; 350: 2167-79.
30. Williams EL, Gadola S, Edwards CJ. Anti-TNF-induced lupus. *Rheumatology* 2009; 48: 716-20.
31. Carroll MB, Bond MI. Use of tumor necrosis factor alpha inhibitors in patients with chronic hepatitis B infection. *Semin Arthritis Rheum* 2008; 38: 208-17.
32. Carmona L, Gómez-Reino JJ, Rodríguez-Valverde V, Montero D, Pascual-Gómez E, Mola EM. Effectiveness of recommendations to prevent activation of latent tuberculosis infection in patients treated with tumor necrosis factor antagonists. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1766-72.
33. McNeil M, Brennan PJ. Structure, function, and biogenesis of the cell envelope of mycobacteria in relation to bacterial physiology, pathogenesis, and drug resistance: Some thoughts and possibilities arising from recent structural information. *Res Microbiol* 1991; 142: 451.
34. Mosmann TR, Moore KW: The role of IL-10 in cross regulation of Th1 and Th2 responses. *Parasitol Today* 1991; 7: 49-53.
35. Flesch IEA, Kaufmann SHE. Activation of tuberculostatic macrophage functions by gamma interferon, interleukin-4, and tumor necrosis factor. *Infect Immun* 1990; 58: 2675-7.
36. Scott P, Kaufmann SHE. The role of T-cell subsets and cytokines in the regulation of infection. *Immunol Today* 1991; 12: 346-8.
37. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. *Medical Microbiology*. 25th edition, United States of America, The McGraw-Hill Companies, 2010, 289-99.
38. Murray PR, Drew WC, Kobayashi GS, Thompson JH. *Medical Microbiology*. 6th edition, Philadelphia, Elsevier Inc, 2009, 218.

39. Arend SM, Engelhard CF, Groot G, De Boer K, Andersen P, Ottenhoff THM, Van Dissel JT. Tuberculin skin testing compared with T cell responses to Mycobacterium tuberculosis specific and nonspecific antigens for detection of latent infection in persons with recent tuberculosis contact Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8: 1089-96.
40. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific Immunebased diagnosis of tuberculosis Lancet 2000; 356: 1099-104.
41. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. TC Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı. Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. 1.Baskı Ankara, Rekmay Ltd Şti, 2003; 7-74.
42. Uçan ES, Sevinç C, Abadoğlu O, Arpaz S, Ellidokuz H. Tuberkulin testi sonuçlarının yorumlanması, ülkemiz standartları ve yeni gereksinimler. Toraks Dergisi 2000; 1: 25-9.
43. A Joint Statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection Am J Respir Crit Care Med 2000; 161: 221-47.
44. Berkel GM, Cobelens FGJ, Vries G, Draayer-Jansen IWE, Borgdorff MW. Tuberkulin skin test: Estimation of positive and negative predictive values from routine data Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9: 310-6.
45. Sorensen AL, Nagai S, Houen G, Andersen P, Andersen AB. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by Mycobacterium tuberculosis Infect Immun 1995; 63: 1710-7.
46. Streeton JA. Sensitivity and Specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection Int J Tuberc Lung Dis 1998; 2: 443-50.
47. Franken WP, Timmermans JF, Prins C, Slootman EJ, Dreverman J, Bruins H, Dissel JT, Arend SM. Comparison of Mantoux and QuantiFERON TB Gold tests for diagnosis of latent tuberculosis infection in Army personel Clin Vaccine Immunol 2007; 14: 477-80.
48. Li H, Ulstrup JC, Jonassen TO, Melby K, Nagai S, Harboe M. Evidence for absence of the MPB64 gene in some substrains of Mycobacterium bovis BCG. Infect Immun 1993; 61: 1730-4.
49. Mustafa AS, Amoudy HA, Wiker HG, Abal AT, Ravn P, Oftung F, Andersen P. Comparison of antigen-specific T-cell responses of tuberculosis patients using complex or single antigens of Mycobacterium tuberculosis. Scand J Immunol 1998; 48: 535-43.

50. Nakamura RM, Velmonte MA, Kawajiri K, Ang CF, Frias RA, Mendoza MT, Montoya JC, Honda I, Haga S, Toida I. MPB64 mycobacterial antigen: a new skin-test reagent through patch method for rapid diagnosis of active tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 541-6.
51. Lewis KN, Liao R, Guinn KM, Hickey MJ, Smith S, Behr MA, Sherman DR. Deletion of RD1 from *Mycobacterium tuberculosis* mimics bacille Calmette-Guerin attenuation. *J Infect Dis* 2003; 187: 117-23.
52. Pym AS, Brodin P, Brosch R, Huerre M, Cole ST. Loss of RD1 contributed to the attenuation of the live tuberculosis vaccines *Mycobacterium bovis* BCG and *Mycobacterium microti*. *Mol Microbiol* 2002; 46: 709-17.
53. Marcucci F, Waller M, Kirchner H, Krammer P. Production of immune interferon by murine T cell clones from long-term cultures. *Nature* 1981; 291: 79.
54. Kasahara T, Hooks JJ, Dougherty SF, Oppenheim JJ. Interleukin-2 mediated immunotuberculous and nontuberculous pleurisy in patients with positive tuberculin skin test. *Chest* 1990; 97: 1381-85.
55. Shimokata K, Kawachi H, Kishimoto H, Maeda F, Ito Y. Local cellular immunity in tuberculosis pleurisy. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 822-4.
56. Tsudo M, Uchiyama T, Uchino H. Expression of Tac Antigen on activated normal human B cells. *J Exp Med* 1984; 160: 612-7.
57. Chan J, Tanaka K, Carroll D, Flynn J, Bloom BR. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on murine infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1995; 63: 736-40.
58. MacMicking JD, North RJ, LaCourse R, Mudgett JS, Shah SK, Nathan CF. Identification of NOS-2 as a protective locus against tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5243-8.
59. Nicholson S, Bonecini G, Lapa JR, Nathan C, Xie QW, Mumford R, Weidner JR, Calaycay J, Geng J, Boechat N, Linhares C, Rom W, Ho JL. Inducible nitric oxide synthase in pulmonary alveolar macrophages from patients with tuberculosis. *J Exp Med* 1996; 183: 2293-302.
60. Rockett KA, Brookes R, Udalova I, Vidal V, Hill AV, Kwiatkowski D. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces nitric oxide synthase and suppresses growth of *Mycobacterium tuberculosis* in human macrophage-like cell line. *Infect Immun* 1998; 66: 5314-21.

61. Sorensen AL, Nagai S, Houen G, Andersen P, Andersen AB. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by Mycobacterium tuberculosis. *Infect Immun* 1995; 63: 1710-17.
62. Streeton JA. Sensitivity and Specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 443-50.
63. Franken WP, Timmermans JF, Prins C, Slootman EJ, Dreverman J, Bruins H, Dissel JT, Arend SM. Comparison of Mantoux and QuantiFERON TB Gold tests for diagnosis of latent tuberculosis infection in Army personnel. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 477-80.
64. Pai M, Riley LW, Colford JM. Interferon gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 761-76.
65. Fautrel B, Pham T, Mouterde G, Le Loët X, Goupille P, Guillemin F, Ravaud P, Cantagrel A, Dougados M, Puéchal X, Sibilia J, Soubrier M, Mariette X, Combe B. Recommendations of the French Society for Rheumatology regarding TNF alpha antagonist therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2007; 74: 627-37.
66. Pai M, Gokhale K, Joshi R, Dogra S, Kalantri S, Mendiretta DK, Narang P, Daley CL, Granich RM, Mazurek GH, Reingold AL, Riley LW, Colford JM. Mycobacterium tuberculosis Infection in Health Care Workers in Rural India. Comparison of a Whole-Blood Interferon γ Assay With Tuberculin Skin Testing. *JAMA*. 2005; 293: 2746-55.
67. Streeton JA, Desem N, Jones SL. Sensitivity and Specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1998; 2: 443-50.
68. Brock I, Weldingh Karin, Lillebaek T. Comparison of Tuberculin Skin Test and New Specific Blood Test in Tuberculosis Contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 65-9.
69. Diel R, Goletti D, Ferrara G, Bothamley G, Cirillo D, Kampmann B, Lange C, Losi M, Markova R, Migliori GB, Nienhaus A, Ruhwald M, Wagner D, Zellweger JP, Huitric E, Sandgren A, Manissero D. Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis. *Eur Resp Soc* 2011; 37: 88-99.
70. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, Bernardo J, Lardizabal AA, Bishai WR, Iademarco MF, Rothel JS. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent Mycobacterium tuberculosis infection. *JAMA* 2001; 286: 1740-7.

71. Fietta A, Meloni F, Cascina A, Morosini M, Marena C, Troupioti P, Mangiarotti P, Casali L. Comparison of a whole-blood interferon-gamma assay and tuberculin skin testing in patients with active tuberculosis and individuals at high or low risk of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Am J Infect Control* 2003; 31: 347-53.
72. Kucharz EJ, Korzeniewska-Kosela M, Kotulska A. Recommendations for prophylaxis and management of tuberculosis in patients treated with TNF-alpha antagonists. *Rheumatologia* 2008; 46: 51-4.
73. Canadian Tuberculosis Committee. Updated Recommendations on interferon gamma release assays for latent tuberculosis infection. *CCDR* 2010; 36: 1-21.
74. Taggart EW, Hill HR, Ruegner RG, Martins TB, and Litwin CM. Evaluation of an in vitro assay for gamma interferon production in response to *Mycobacterium tuberculosis* infections. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004; 11: 1089-93.
75. Katial RK, Hershey J, Purohitt-Seth T, Belisle JT, Brennan PJ, Spencer JS, Engler RJM. Cell mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole blood culture. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2001; 8: 339-45.
76. Kılıçaslan Z. Dünyada ve Türkiye’de Tüberküloz. *ANKEM Derg* 2007; 21: 76-80.
77. Diel R, Hauer B, Loddenkemper R, Manger B, Krüger K. Recommendations for tuberculosis screening before initiation of TNF-alpha-inhibitor treatment in rheumatic diseases. *Z Rheumatol*. 2009; 68: 411-6.
78. Solovic I, Sester M, Gomez-Reino JJ, Rieder HL, Ehlers S, Milburn HJ, Kampmann B, Hellmich B, Groves R, Schreiber S, Wallis RS, Sotgiu G, Schölvinc EH, Goletti D, Zellweger JP, Diel R, Carmona L, Bartalesi F, Ravn P, Bossink A, Duarte R, Erkens C, Clark J, Migliori GB, Lange C. The risk of tuberculosis related to tumour necrosis factor antagonist therapies: a TBNET consensus statement. *Eur Respir J*. 2010; 36: 1185-206.
79. Bray MG, Poulain C, Dougados M, Gossec L. Frequency and tolerance of antituberculosis treatment according to national guidelines for prevention of risk of tuberculosis due to tumor necrosis factor blocker treatment. *Joint Bone Spine* 2010; 77: 135-41.
80. Briassoulis G, Karabatsou I, Gogoglou V, Tsorva A. BCG vaccination at three different age groups: response and effectiveness. *J Immune Based Ther Vaccines* 2005; 3: 1.

81. Lewinsohn DA, Zalwango S, Stein CM, Mayanja-Kizza H, Okwera A, Boom WH, Mugerwa RD, Whalen CC. Whole blood interferon-gamma responses to mycobacterium tuberculosis antigens in young household contacts of persons with tuberculosis in Uganda. *PLoS ONE* 2008; 3: 3407.
82. Ferrara G, Losi M. Use in Routine Clinical Practice of Two Commercial Blood Test for Diagnosis of Infection With Mycobacterium Tuberculosis: a Prospective Study. *Lancet*, 2006; 367: 1328-34.
83. Martin J, Walsh C, Gibbs A, McDonnell T, Fearon U, Keane J, Codd MB, Dodd J, Veale D, Fitzgerald O, Bresnihan B. Comparison of interferon {gamma} release assays and conventional screening tests before tumour necrosis factor {alpha} blockade in patients with inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69: 181-5.
84. Kang YA, Lee WH, Yoon HI, Cho BL, Hang SK, Shim YS, Yim JJ. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis burden country. *JAMA* 2005; 293: 2476-85.
85. Diel R, Ernst M, Doscher G, Visuri-Karbe L, Greinert U, Niemann S, Nienhaus A, Lange C. Avoiding the effect of BCG vaccination in detecting Mycobacterium tuberculosis infection with a blood test. *Eur Respir J* 2006; 28: 16-23.
86. Kleinert S, Kurzai O, Elias J, Marten K, Engelke C, Feuchtenberger M, Sandstede J, Frosch M, Tony HP, Kneitz C. Comparison of two interferon-gamma release assays and tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis in patients with immune-mediated inflammatory diseases. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 782-4.
87. Chang B, Park HY, Jeon K, Ahn JK, Cha HS, Koh EM, Kang ES, Koh WJ. Interferon- γ release assay in the diagnosis of latent tuberculosis infection in arthritis patients treated with tumor necrosis factor antagonists in Korea. *Clin Rheumatol* 2011; 30: 1535-41.
88. Mrozek N, Pereira B, Soubrier M, Gourdon F, Laurichesse H. Screening of tuberculosis before biologics. *Med Mal Infect*. 2012; 42: 1-4.
89. Kampmann B, Whittaker E, Williams A, Walters S, Gordon A, Martinez-Alier N, Williams B, Crook AM, Hutton AM, Anderson ST. Interferon-gamma release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J*. 2009; 33: 1374-82.

90. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA. At al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells. *AIDS*. 2002; 16: 2285-93.
91. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP, Pasvol G, Hill AV. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163: 824-8.
92. Lee JY, Choi HJ, Park IN, Hong SB, Oh YM, Lim CM, Lee SD, Koh Y, Kim WS, Kim DS, Kim WD, Shim TS. Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing Mycobacterium tuberculosis infection. *Eur Respir J* 2006; 28: 24-30.
93. Bartalesi F, Vicidomini S, Goletti D, Fiorelli C, Fiori G, Melchiorre D, Tortoli E, Mantella A, Benucci M, Girardi E, Cerinic MM, Bartoloni A (2009) QuantiFERON-TB Gold and the TST are both useful for latent tuberculosis infection screening in autoimmune diseases. *Eur Respir J* 33: 586-93.
94. B  lard E, Semb S, Ruhwald M, Werlinrud AM, Soborg B, Jensen FK, Thomsen H, Brylov A, Hetland ML, Nordgaard-Lassen I, Ravn P. Prednisolone treatment affects the performance of the QuantiFERON gold in-tube test and the tuberculin skin test in patients with autoimmune disorders screened for latent tuberculosis infection. *Inflamm Bowel Dis*. 2011; 17: 2340-9.
95. Ponce de Leon D, Acevedo-Vasquez E, Alvizuri S, Gutierrez C, Cucho M, Alfaro J, Perich R, Sanchez-Torres A, Pastor C, Sanchez-Schwartz C, Medina M, Gamboa R, Ugarte M. Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol*. 2008; 35: 776-81.
96. Greenberg JD, Reddy SM, Schloss SG, Kurucz OS, Bartlett SJ, Abramson SB, Bingham CO 3rd. Comparison of an in vitro tuberculosis interferon-gamma assay with delayed-type hypersensitivity testing for detection of latent Mycobacterium tuberculosis: a pilot study in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2008; 35: 770-775.
97. Kawabe Y. Application and Problems of Quantiferon TB-2G for Tuberculosis Control Programs - (2) Clinical Use of Quantiferon TB-2G. *Kekkaku* 2007; 82: 61-6.